



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Programa Regional de Posgrado en Biotecnología
Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología

**Efecto de la Temperatura sobre la
Presencia de los Virus TYLCV y PHYVV
en Biotipos de *Bemisia tabaci* Genn. en
Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)**

T E S I S

que presenta

IBT Mirna Francisca Vizcarra Sánchez

como requisito para

obtener el grado de

**Maestra en Ciencias con Orientación
en Biotecnología Agroalimentaria**

Directores

Dr José Antonio Garzón Tiznado

Dra María Elena Valverde González

Culiacán de Rosales, Sinaloa, México Junio de 2017

Presentación

La presente investigación, titulada “Efecto de la Temperatura sobre la Presencia de los Virus TYLCV y PHYVV en Biotipos de *Bemisia tabaci* Genn. en Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)” se llevó a cabo en el “Laboratorio de Fitopatología y Biología Molecular”, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Los C Dra Karen Virginia Pineda Hidalgo, Dra Claudia del Rosario León Sicairos, Dr José Ángel López Valenzuela y Dr Roberto Gutiérrez Dorado, participaron como Asesores Académicos y Miembros del H Comité Tutorial de la C Mirna Francisca Vizcarra Sánchez. Los C Dra María Elena Valverde González y Dr José Antonio Garzón Tiznado fungieron como Director de Tesis. Mirna Francisca recibió Beca Nacional para Estudios de Posgrado (Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología Agroalimentaria” del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, especialmente al Programa Regional de Posgrado en Biotecnología por permitirme formar parte de ellos y de esa manera poder cumplir mis metas y objetivos trazados.

A mis compañeros del “Laboratorio de Fitopatología y Biología Molecular” por todo el apoyo y comprensión, principalmente a Perla J. Flores por su ayuda incondicional en todo momento.

Agradezco muy especialmente al Dr José Antonio Garzón Tizado por su paciencia, apoyo, enseñanzas, asesoramiento y por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo. A la Dra María Elena Valverde González principalmente por aceptar ser parte de esta trabajo, por su apoyo y conocimiento brindado; fue un honor haber tenido la oportunidad de realizar este trabajo bajo la dirección de ambos.

A mis Asesores Académicos (Dra Karen Virginia Pineda Hidalgo, Dra Claudia del Rosario León Sicairos, Dr José Ángel López Valenzuela) por sus enseñanzas, consejos, paciencia y apoyo poder finalizar este trabajo. Al Dr Roberto Gutiérrez Dorado por su asesoramiento, apoyo, sugerencias y ayuda en el área de Bioestadística.

Al Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Sinaloa (CESAVESIN), a través de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle de Culiacán, en especial al Ing Mauricio Álvarez Zepeda, por su apoyo en la toma de muestras de campo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el otorgamiento de Beca Nacional para Estudios de Posgrado.

A mis padres, por haberme guiado y ser parte fundamental en mi desarrollo profesional, por su confianza y por apoyarme en todo momento.

A mis hermanos y mi cuñado Giovanni por darme ánimo, y por su ayuda.

A mi esposo por su confianza, amor, ánimo y apoyo incondicional. Por ser parte fundamental en mi vida. A mi hija perruna Matilda por recordarme el valor de la paciencia y comprensión, y por su amor incondicional.

A mis suegros también por ser parte de apoyo en la vida de mi esposo y mía.

INDICE GENERAL

	Pág
INDICE GENERAL	i
INDICE CUADROS	iii
INDICE FIGURAS	iv
I RESUMEN	1
ABSTRACT	3
II INTRODUCCIÓN	5
III REVISIÓN DE LA LITERATURA	7
A <i>Bemisia tabaci</i> Gennadius	7
1 Biología	7
2 Ciclo de vida y reproducción	8
3 Morfología	11
4 Biotipos	17
5 Importancia económica y daños ocasionados	20
B FAMILIA <i>GEMINIVIRIDAE</i>	22
1 Mastrevirus	25
2 Curtovirus	27
3 Topocuvirus	27
4 Becortovirus	27
5 Eragrovirus	29
6 Turncurtovirus	29
7 Begomovirus	30
C VIRUS DEL RIZADO AMARILLO DEL TOMATE (TYLCV) Y VIRUS HUASTECO DE LA VENA AMARILLA DEL CHILE (PHYVV)	35
1 Síntomas causados por TYLCV	39
2 Virus huasteco de la vena amarilla del chile (PHYVV)	41
3 Replicación del ADN viral	42
4 Transmisión del TYLCV	44
5 Estrategias de control	46
D GENERALIDADES DEL TOMATE	53
IV JUSTIFICACIÓN	55
V OBJETIVOS	56
A OBJETIVO GENERAL	56
B OBJETIVOS ESPECÍFICOS	56
VI MATERIALES Y MÉTODOS	57
A MATERIALES	57
B MÉTODOS	59
1 Extracción de ADN	59
2 Amplificación por PCR	60
3 Análisis electroforético de fragmentos de ADN	64

	amplificados por PCR	
	4 Análisis estadístico	65
VII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
	A ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE BEGOMOVIRUS Y <i>Bemisia tabaci</i> EN CULTIVO DE TOMATE	67
	1 Presencia de <i>Bemisia tabaci</i> en cultivo de tomate	67
	2 Presencia de síntomas de begomovirus en cultivo de tomate	67
	3 Comportamiento de temperatura y grados día durante el ciclo agrícola 2015-16	70
	B IDENTIFICACIÓN DE BIOTIPOS, VIRUS TYLCV Y PHYVV EN INSECTOS DE <i>Bemisia tabaci</i>	72
	1 Análisis electroforético del ADN viral de insectos de <i>Bemisia tabaci</i> Genn. y tejido vegetativo de plantas de tomate	72
	2 Análisis de la presencia de <i>Bemisia tabaci</i> Genn.	75
	3 Detección e incidencia de TYLCV en <i>Bemisia tabaci</i>	81
	4 Detección e incidencia de PHYVV en <i>Bemisia tabaci</i>	84
	5 Coinfección entre TYLCV y PHYVV en <i>Bemisia tabaci</i>	87
	C ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE SÍNTOMAS DE BEGOMOVIRUS EN PLANTAS Y BIOTIPOS DE <i>Bemisia tabaci</i>	88
	1 Análisis estadístico de asociación de la presencia de <i>Bemisia tabaci</i> y el porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus	88
	2 Análisis estadístico de asociación de GDpA y <i>Bemisia tabaci</i> en plantas	88
	3 Análisis estadístico de asociación de GDpA y porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus	89
	4 Análisis de asociación entre biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> y grados día promedio acumulados	93
	5 Análisis de asociación entre biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> con incidencia de TYLCV y grados día promedio acumulados	96
	6 Análisis de asociación entre biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> con incidencia de PHYVV y grados día promedio acumulados	100
VIII	CONCLUSIONES	104
IX	BIBLIOGRAFÍA	105
	Abreviaturas	125

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Pág
1	Clasificación de los miembros de la familia <i>Geminiviridae</i>	26
2	Fechas de muestreo de <i>Bemisia tabaci</i> Genn y tejido de plantas de tomate	58
3	Nombre, secuencia, y temperatura de alineamiento para el análisis de biotipos B y Q de mosquita blanca, y la presencia de TYLCV y PHYVV en estos insectos en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México	62
4	Grados día promedio y acumulados por fechas de muestreo	66
5	Presencia de <i>Bemisia tabaci</i> en plantas de tomate en el ciclo agrícola del 07 de Noviembre de 2015 al 27 de Febrero de 2016.	68
6	Muestreo de la incidencia de begomovirus en plantas de tomate durante el ciclo del 07 de Noviembre de 2015 al 27 de Febrero de 2016 de cultivo de tomate en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.	69
7	Temperaturas máximas y mínimas, grados día, grados día promedio y grados día promedio acumulados registrados quincenalmente durante el período del 07 de Noviembre de 2015 al 27 de Febrero de 2016.	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig	Descripción	Pág
1	Ciclo de vida y reproducción de <i>Bemisia tabaci</i> .	12
2	Huevecillos de <i>Bemisia tabaci</i> fijados a la superficie de la hoja por el estilete, puestos en forma circular.	14
3	Adultos de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius).	16
4	Micrografía electrónica de geminivirus.	24
5	Organización genómica de la familia <i>Geminiviridae</i> .	28
6	Esquema de la región intergénica del componente A de un geminivirus bipartita típico.	32
7	Esquema del genoma de TYLCV mostrando los sentidos de los 6 marcos de lectura abiertos (ORFs).	38
8	Síntomas causados por TYLCV en planta de tomate y chile.	40
9	Síntomas de PHYVV en planta de tomate y chile.	43
10	Extracción de ADN de tejido de plantas de tomate, colectadas en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.	73
11	Extracción de ADN de <i>B. tabaci</i> , colectadas en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa	74
12	Detección de biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> . Muestras de ADN de la colecta del 19 de Enero de 2016 en el Valle de Culiacán, en el sitio San Ignacio, Sinaloa.	76
13	Frecuencia de los biotipos B, Q y Ot en cultivo de tomate en campo abierto durante el ciclo 2015-2016.	78
14	Porcentaje de biotipos B, Q y Ot de <i>Bemisia tabaci</i> en cultivo de tomate en campo abierto durante el ciclo 2015-2016.	80
15	Amplificaciones de TYLCV en <i>Bemisia tabaci</i> , muestras colectadas de Noviembre de 2015 a Marzo de 2016.	82
16	Biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> con incidencia de TYLCV, colectados en el ciclo agrícola de tomate 2015-2016 , en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.	83
17	Detección de PHYVV en <i>Bemisia tabaci</i> del muestreo del 19 de enero de 2016, en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.	85
18	Biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> con incidencia de PHYVV en el ciclo agrícola de tomate 2015-2016, en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.	86

19	Correlación de Pearson entre porcentaje de individuos de <i>Bemisia tabaci</i> y el porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus, en el ciclo agrícola 2015-2016.	90
20	Correlación de Pearson entre GDpA y <i>Bemisia tabaci</i> en plantas de tomate, en el ciclo agrícola 2015-2016.	91
21	Correlación de Pearson entre GDpA y porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus, en el ciclo agrícola 2015-2016, en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.	92
22	Gráfica de interacción entre porcentaje de presencia de biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> y GDpA, en el ciclo agrícola 2015-2016 en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.	94
23	Gráfica de Interacción entre porcentaje de presencia de biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> y límites inferior y superior de GDp, en el ciclo agrícola 2015-2016, en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.	95
24	Gráfica de interacción entre grados días promedio acumulados y porcentaje de biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> con incidencia de TYLCV, en el ciclo agrícola 2015-2016.	98
25	Gráfica de interacción entre porcentaje de presencia de biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> con incidencia de TYLCV y límites inferior y superior de grados días promedio, en el ciclo agrícola 2015-2016.	99
26	Gráfica de interacción entre grados días promedio acumulados y porcentaje de biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> con incidencia de PHYVV, en el ciclo agrícola 2015-2016.	102
27	Gráfica de interacción entre porcentaje de presencia de biotipos de <i>Bemisia tabaci</i> con incidencia de PHYVV y límites inferior y superior de grados días promedio, en el ciclo agrícola de 2015-2016.	103

I RESUMEN

La mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius) es un insecto que se alimenta de más de 600 especies de plantas y tiene 31 biotipos registrados a la fecha. En específico, el estudio de los biotipos B y Q ha sido dirigido con mayor atención, debido a su habilidad para transmitir virus y resistencia a insecticidas. Algunas características que se le atribuyen al biotipo B son la extensa gamma de huéspedes y una mayor fecundidad. Al biotipo Q, se le relacionan características similares a las del biotipo B, con la diferencia de una impresionante resistencia a unos cuantos insecticidas y tolerancia a altas temperaturas. Así mismo, los biotipos B y Q de *Bemisia tabaci* han sido descritos como transmisores específicos de algunos begomovirus como el virus del rizado amarillo del tomate (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV), el cual es un begomovirus monopartita perteneciente a la familia *Geminiviridae* que ha causado daños irreversibles en cultivo de tomate debido a las dificultades para controlar esta plaga. Otro begomovirus transmitido por *B. tabaci* y que afecta hortalizas es el PHYVV (*Virus Huasteco de la Vena Amarilla del Chile*), este virus posee un genoma bipartita y aunque se ha reportado que su eficiencia de transmisión en tomate es baja, éste puede presentarse aun cuando las poblaciones de mosca blanca son bajas. El PHYVV sólo ha sido reportado en regiones de México productoras de tomate entre las que se encuentra el estado de Sinaloa. Sin embargo, a pesar de su prevalencia y los daños que puede llegar a causar en los cultivos que afecta, las investigaciones científicas que existen acerca de éste virus son escasas. En particular, no existe información que relacione a la temperatura con el comportamiento de estos virus en su interacción con la planta. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la temperatura sobre la presencia del TYLCV y PHYVV en biotipos de *B. tabaci* Genn. a partir de plantas de tomate infectadas. Se recolectaron 109 individuos de mosca blanca durante los meses de Noviembre a Marzo del ciclo 2015-2016 en cultivo de tomate en el sitio San Ignacio,

Culiacán, Sinaloa, México. Se realizó la extracción de ADN de cada insecto, y posteriormente se hizo la detección de TYLCV por medio de la amplificación de un segmento de 334 pares de bases de la región 3' del gen de la proteína de la cápside, y de PHYVV mediante la amplificación de un segmento de 350 pares de bases del componente A de begomovirus bipartita, el cual incluye la región común y parte de la proteína de la cápside. La detección de los biotipos B y Q de *B. tabaci* fue mediante la amplificación por PCR punto final de fragmentos de 292 pb y 334 pb de la carboxil esterasa II del insecto, respectivamente. La confirmación de la identidad de cada uno de los virus y los biotipos B y Q se realizó por medio de la secuenciación de los fragmentos amplificados. Algunas muestras no amplificaron con los iniciadores específicos para biotipos B y Q, lo que quizás se deba a la presencia de otro biotipo en la región; a estas muestras inespecíficas se les nombró como biotipos Ot. Los resultados indicaron que la presencia de TYLCV en *B. tabaci* respondió a altas temperaturas en los registros del biotipo B, ya que cuando se registraron 15.54 grados día promedio (GDp) en 15 días, la incidencia de este virus fue mayor que cuando se tuvieron 11.17 GDp. Sin embargo, la presencia de PHYVV en el biotipo B presentó un comportamiento inverso al TYLCV, ya que el mayor porcentaje de este biotipo con PHYVV se registró a 11.17 GDp y éste fue menor a 15.54 GDp. En cuanto a la relación entre la presencia de los biotipos de *B. tabaci* expresada en grados día promedio acumulados (GDpA), se obtuvo una respuesta positiva del biotipo B, contrario a lo ocurrido en el biotipo Ot, pero en el biotipo Q se observó un comportamiento estable independientemente de los GDpA. Con lo anterior se puede concluir que fue posible identificar la presencia de los biotipos B y Q en *B. tabaci* Genn y de los begomovirus TYLCV y PHYVV en moscas blancas. La temperatura se relaciona directamente con la presencia de *B. tabaci* y a su vez con el porcentaje de begomovirus y de plantas con síntomas. Los resultados obtenidos podrán ayudar a mejorar las estrategias establecidas para el control de *B. tabaci*.

ABSTRACT

The whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), is an insect that feeds on more than 600 species of plants, and it has 31 biotypes registered to date. Specifically, the study of B and Q biotypes has been addressed with more attention, due to its ability to transmit viruses and resistance to insecticides. Some characteristics attributed to biotype B are the extensive gamma of hosts and greater fecundity. The biotype Q has some characteristics similar to those of biotype B, with the difference of an impressive resistance to a few insecticides and tolerance to high temperatures. Likewise, B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* have been described as specific transmitters of some begomoviruses as *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), a monopartite begomovirus belonging to *Geminiviridae* family that has caused irreversible damage to tomato crops due to the difficulties in controlling this pest. Another begomovirus transmitted by *B. tabaci* that affects vegetables is PHYVV (Pepper Huasteco Yellow Vein Virus), which has a bipartite genome, and although it has a low transmission efficiency in tomato, this can occur even when the whitefly populations are small. PHYVV has only been reported in tomato producer region of Mexico, including the state of Sinaloa. However, despite its prevalence and the damage it can cause to the crops, scientific research about this virus is scarce. In particular, there is no information that related the temperature with the behavior of these viruses in their interaction with the plant. Therefore, the objective of this work was to determine the effect of temperature on the presence of TYLCV and PHYVV in biotypes of *B. tabaci* Genn. from infected tomato plants. A total of 109 whitefly insects were collected from November to March of the 2015-2016 cycle of tomato crop in San Ignacio, Culiacan, Sinaloa, Mexico. DNA extraction of each insect was carried out, and the detection of TYLCV was performed by amplification of a segment of 334 base pairs at the 3' region of the capsid protein gene, whereas PHYVV was identified by amplification of a 350 base pairs segment of the component A of bipartite begomoviruses, which includes

the common region and part of the capsid protein, as well as *Bemisia tabaci* B and Q biotypes were detected by PCR amplification of fragments of 292 pb and 334 pb of the insect carboxyl esterase II respectively. Confirmation of the identity of each virus and B and Q biotypes was performed by sequencing the amplified fragments. Some samples did not amplify with the specific primers for B and Q biotypes, perhaps due to the presence of another biotype in the region, these nonspecific samples were named as Ot biotypes. The results indicated that the presence of TYLCV in *B. tabaci* responded to high temperatures in the biotype B records, since the incidence of this virus recorded at 15.54 Average Degree Day (ADD) in 15 days was higher than that at 11.17 ADD. Nevertheless, the presence of PHYVV in biotype B had an inverse behavior to TYLCV, since the highest percentage of this biotype with PHYVV was recorded at 11.17 ADD and the lowest value was recorded at 15.54 ADD. Regarding the relationship between the presence of *B. tabaci* biotypes expressed in Average Accumulated Degree Day (AADD), a positive response of biotype B was obtained, contrary to what happened in the biotype Ot, however, a stable behavior was observed in the biotype Q regardless of the AADD. Thus, it can be concluded that it was possible to identify the presence of *B. tabaci* Genn. B and Q biotypes and the presence of TYLCV and PHYVV viruses in whiteflies. The temperature is directly related to the presence of *B. tabaci* and at the same time with the percentage of begomovirus and plants with symptoms. The results obtained will be helpful to improve the strategies established for the control of *B. tabaci*.

II INTRODUCCIÓN

Bemisia tabaci también conocida como la mosca blanca del algodón, del tabaco o de la batata es una especie ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde se alimenta de más de 600 especies de plantas cultivadas y silvestres (Mound y Halsey 1978; Greathead 1986; Secker y col 1998). Fue descrita por primera vez por Gennadius en el año 1889, en Grecia, sobre planta de tabaco (*Nicotiana* sp.), con el nombre de *Aleurodes tabaci* (Gennadius 1889). Su ciclo de vida está muy influenciado por factores abióticos como la temperatura, la humedad relativa, baja cantidad de lluvia, y el fotoperíodo, así como las características de su hospedante, por lo que la literatura al respecto es muy variable. Su ciclo de desarrollo consiste en una metamorfosis que pasa por los siguientes estados: huevecillo, cuatro instares ninfales y adulto (Brown y Bird 1992).

Los organismos poiquiloterms, entre los que se encuentran artrópodos (muchos de ellos parásitos), se caracterizan por el hecho de que la variación de temperatura interna es una consecuencia de la variación en la temperatura ambiental. Por lo tanto, el factor abiótico más importante para estos seres es la temperatura, que tiene un papel crucial en su distribución, crecimiento y desarrollo (Marshall 1981; Dawson y col 2005). Se han distinguido varios biotipos de *Bemisia tabaci* con base en su ubicación geográfica, los hospedantes que atacan, las características morfológicas y las esterasas marcadoras (Brown 1993; Bedford y col 1994). Existen descritos 31 biotipos de mosquita blanca (Lee y col 2013). El biotipo B fue documentado en 1988 (Costa y Brown 1991) y era el más disperso en el mundo hasta que fue identificado el biotipo Q en algunas regiones del Mediterráneo (De Barro y col 2010), éste ha desplazado al B de varios países debido a que posee resistencia al insecticida piriproxifen (llamado comercialmente Knack) muy utilizado en cultivos agrícolas, y a neonicotinoides, mientras que el biotipo B es susceptible a ellos (Horowitz y col 2005). Los biotipos B y Q de *Bemisia tabaci* han sido descritos como

transmisores específicos del TYLCV (Brown y col 1995). Varios cultivos han sido afectados económicamente por mosca blanca en diversos lugares del mundo. En México, durante los últimos 10 años los cultivos hortícolas han sido afectados por geminivirus transmitidos por mosquita blanca (*Bemisia tabaci* Genn. Biotipo B) (Torres-Pacheco y col 1996). En los estados de Jalisco, Guanajuato y San Luis Potosí, donde se cultiva el 20% de la superficie de chile y el 10% del tomate a nivel nacional, estos patógenos han dañado del 30 al 40% del área sembrada (Garzón-Tiznado 1995). El TYLCV (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV, por sus siglas en inglés) es un geminivirus perteneciente al género de los begomovirus, con genoma monopartita. Este virus fue identificado por primera vez en Israel en 1939 (Picó y col 1996), y debido a que continúa propagándose en el mundo se han reportado numerosos aislados (Lefeuvre y col 2007), tales son los casos de diferentes países del Mediterráneo y África (Brown 1994). La adquisición del virus por mosca blanca se lleva a cabo mientras ésta se alimenta del floema de la planta infectada por begomovirus como el PHYVV y el TYLCV (Benforf 1994); éste último induce enfermedades que limita la producción del tomate en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Moriones y Navas Castillo,2000), donde se han reportado pérdidas en rendimiento hasta del 100% , sobre todo cuando las plantas son infectadas en las primera etapas fenológicas del cultivo (Nakhla y col 1999, Moriones y Navas Castillo 2008). El PHYVV (*Virus Huasteco de la Vena Amarilla del Chile*), posee un genoma bipartita (Brown 2003b) y fue identificado por primera vez en la región la Huasteca a finales de los 80s (Garzón-Tiznado y col 1993; Torres-Pacheco y col 1993). Se sabe que puede presentarse aun cuando las poblaciones locales de mosquita blanca son bajas; el virus posee un rango reducido de hospederos y no hay evidencia de que pueda transmitirse por semilla (Brown 2003a). Este begomovirus se ha reportado con alta eficiencia de transmisión en chile y tabaco, pero con una baja eficiencia en tomate (Garzón-Tiznado y col 1993; Torres-Pacheco y col 1993).

III REVISIÓN DE LITERATURA

A *Bemisia tabaci* Gennadius

1 Biología

La mosca blanca (*Bemisia tabaci*) también conocida como la mosca blanca del algodón, del tabaco o de la batata Mound y Halsey 1978; Greathead 1986; Secker y col 1998), pertenece a la familia *Aleyrodidae*, (Westwood 1840), subfamilia *Aleyrodinae*, integrada en el orden hemíptera, al género *Bemisia* (Quaintance y Barkeer 1914), a la especie *B. tabaci* (Gennadius 1889), clase insecta, subclase Pterygota (Hemimetabola), phylum Arthropoda y al reino animal. *B. tabaci* es una especie ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde se alimenta de más de 600 especies de plantas cultivadas y silvestres (Mound y Halsey 1978; Greathead 1986; Secker y col 1998).

La mosca blanca, se cree que tiene su origen en el continente africano o bien en la zona de la India y Pakistán (Brown y col 1995). Fue descrita por primera vez por Gennadius en el año 1889, en Grecia, sobre planta de tabaco (*Nicotiana* sp.), con el nombre de *Aleurodes tabaci* (Gennadius, 1889). Años después, en el Nuevo Continente, en concreto en Florida, Quaintance (1900) la describió de nuevo, a partir de ejemplares capturados sobre varias especies vegetales, y la denominó *Aleurodes incospicua*. Quaintance y Baker (1914), al describir a *Bemisia* como un nuevo género utilizando como especie tipo a *Aleurodes incospicua*, cambia su nombre por el de *Bemisia incospicua*. En 1957 esta especie y otras 18 previamente descritas, fueron sinonimizadas por Russell (1957) en una especie única, *Bemisia tabaci*. En 1978 se hizo una revisión de las especies incorporando todas las sinonimias de Russell y posteriores (Mound y Halsey, 1978a), se obtuvieron un total de 22 sinónimos que se atribuye a la variabilidad en la morfología de la cápsula pupal (Mound y Halsey 1978a).

2 Ciclo de vida y reproducción

Las mosquitas blancas son pequeños insectos con aparato picador chupador en forma de pico, tienen el cuerpo y las alas cubiertas con un polvillo blanco. Su ciclo de vida de está muy influenciado por factores abióticos como la temperatura, la humedad relativa y el fotoperíodo, así como las características de su hospedante, por lo que la literatura al respecto es muy variable (Mound y Halsey 1978). De las 1,300 especies de moscas blancas descritas sólo los géneros *Bemisia* y *Trialeurodes* han sido citados como vectores de virus (Mound y Halsey 1978). Se reproducen por arrenotoquia, procediendo los machos de huevos haploides no fecundados y las hembras de huevos diploides fecundados por los machos. Los huevecillos son depositados por las hembras normalmente en el envés de las hojas (Gill 1990; Castañé y col 2008).

La fecundidad, es de 100 a 300 huevecillos y varía dependiendo de las condiciones ambientales (Brown y Bird 1992). Los huevecillos de *Bemisia tabaci*, son colocados individualmente o en grupos en el envés de las hojas. La eclosión puede presentarse de entre 5 a 10 días después (Byrne y Bellows 1991).

El ciclo de vida bajo condiciones óptimas en el trópico, generalmente dura menos de tres semanas (Mound 1983), y es afectado por las condiciones ambientales (temperatura y precipitación) y el tipo de hospedante (King y Saunders 1984; Byrne y Bellows 1991). Los adultos de la estación seca tienen una longevidad de 10 a 15 días (Van Lenteren y Noldus 1990), siendo las hembras las que generalmente viven más tiempo (Mound 1983). La proporción de sexo generalmente es 1:1 (Van Lenteren y Noldus 1990), aunque las hembras infertilizadas colocan huevos de los cuales eclosionan solamente machos (Mound 1983). Este vector es una plaga estacional, cuyo impacto más severo se presenta en la estación seca (Hilje y col 1992). La alta temperatura, baja humedad relativa y baja cantidad de lluvia favorecen el incremento de las

poblaciones (Anzola y Lastra 1985; Saikia y Muniyappa 1989), especialmente en los cultivos irrigados, fertilizados con nitrógeno, donde las condiciones para el aumento de su población son las ideales (Mound 1983; Anzola y Lastra 1985).

B. tabaci es capaz de completar en los meses más cálidos una generación en tan solo 12–14 días, mientras que en los meses más fríos estos valores se incrementan hasta los 43–49 días (Rapisarda 1990). De este modo, en áreas cálidas se produce un solapamiento de las generaciones, ya que esta especie se reproduce sin interrupción, pudiendo producirse de 11 a 15 generaciones en condiciones tropicales, por año (López-Ávila 2004). Por otro lado, también parece ser que el hospedante, así como el estado sanitario de éste influyen en la fecundidad de *B. tabaci*. El rango de temperaturas al cual puede desarrollarse y multiplicarse esta plaga es muy amplio, ya que puede realizar estos procesos en un intervalo de temperaturas que va desde los 16 °C hasta los 34 °C. Los valores de los umbrales extremos de temperatura por debajo y por encima de los cuales no pueden realizar estos procesos son respectivamente 9 y 40 °C (Sánchez y col 1991). Los valores térmicos limitantes dependen también a su vez del estadio de desarrollo considerado y del hospedante vegetal (Powell y Bellows 1992). De este modo, la ninfa I encuentra su valor térmico mínimo a 16,2 °C en calabacín y a 11,5 °C en el algodón. Por otro lado, el huevo tiene su mínimo térmico a 18,3 °C en el calabacín y a 15,8 en el algodón. La supervivencia de esta especie se incrementa para temperaturas del orden de los 25 – 30°C por encima de la que presenta a 20°C. (Powell y Bellows 1992).

Es común calcular el ciclo de vida del insecto en base a la temperatura ambiental, sin embargo, lo correcto es determinar las fases de su ciclo biológico por la acumulación de unidades calor (UC) ó grados día (GD) que presente. Esta es una unidad que combina el tiempo y temperatura acumulada entre los umbrales de desarrollo aplicables en un período de 24 horas, lo que nos puede indicar entre qué fases de desarrollo se encuentra un organismo. Para realizar

el cálculo de unidades calor, se toman en cuenta las temperaturas máximas y mínimas diarias y se dividen entre dos (por día) menos el umbral de temperatura del insecto, que en el caso de *Bemisia tabaci* Genn. es 10°C, aunque varía dependiendo de la región (Muñiz 2000). Este insecto requiere de una acumulación de 316 a 400 unidades calor entre generaciones aproximadamente (CESAVEG 2004; INFOAGRO 2014; SAEPI 2009).

a Factores abióticos en la regulación del ciclo de vida

Los factores ambientales (temperatura, humedad y fotoperíodo principalmente) influyen de modo decisivo en los organismos, teniendo efectos muy diversos, desde cambios en el comportamiento (desplazamientos, búsqueda de lugares adecuados, migración) hasta cambios hormonales (regulación de la época reproductiva, estrategias de resistencia a condiciones desfavorables) (Ostfeld y col 2005). Aunque las respuestas fenológicas requieren de la combinación de varios factores ambientales (Visser y col 2010), se conoce que la temperatura es un elemento fundamental en la regulación de ciclos de vida y fenómenos fisiológicos, sobre todo en ectotermos (Sharpe y Demichele 1977; Merino y Potti 1996; Thomas y Blanford 2003; Maiorano y col 2012). Los organismos poiquilotermos, entre los que se encuentran artrópodos (muchos de ellos parásitos), se caracterizan por el hecho de que la variación de temperatura interna es una consecuencia de la variación en la temperatura ambiental. Por tanto, el factor abiótico más importante para estos seres es la temperatura, que tiene un papel crucial en su distribución, crecimiento y desarrollo (Marshall 1981; Dawson y col 2005). Además, la temperatura ambiental es un factor clave en la regulación de los ciclos de vida de los organismos ectotermos, debido al efecto que éste causa en estos organismos ya que no son capaces de regular su temperatura corporal (Tauber y col 1986) y particularmente, por su efecto en la conformación y respuesta enzimática que controla el metabolismo (Sharpe y De Michele 1977; Bonhomme 2000). Muchos parásitos usan otras variables ambientales, como la humedad o el fotoperíodo,

como pistas para sincronizarse con el momento adecuado del ciclo vital del hospedador (Marshall 1981).

El factor abiótico que de manera general se denomina temperatura, engloba en realidad una multitud de facetas de gran importancia biológica. La descripción de las características térmicas de un hábitat determinado debe incluir variables como temperatura media, oscilación térmica, valores extremos. Cada una de estas facetas tiene importantes implicaciones en la fisiología de los organismos ectotermos. Por ejemplo, se sabe que la fluctuación térmica provoca una aceleración del desarrollo (Ratte 1984; Radmacher y Strohm 2011; Inoue 2012; Marshall y Sinclair 2012), aunque se ha visto que la amplitud de fluctuación (es decir, las temperaturas extremas) pueden tener un efecto contrario (Petavy y col 2001; Carrington y col 2013). Los eventos de frío pueden igualmente actuar como estímulo en el desarrollo (Tauber y col 1986; Dong y col 2013), o bien pueden producir situaciones de estrés térmico (Marshall y Sinclair 2012) y /o promover tolerancias a condiciones extremas (Bale y col 2002). Los cambios y señales térmicas son detectados por fase o estadios sensibles en la población y emergencia en los momentos óptimos (Tauber y col 1986; Kostal 2006).

3 Morfología

Las especies de mosca blanca presentan 4 estadios: huevecillo, larva, pupa y adulto (Figura 1). A su vez el estado de larva tiene tres estadios: I, II y III. Existen algunas discrepancias en la utilización del término pupa, que no lo es realmente, ya que existe alimentación en la primera parte del estado, y la transformación en adultos se produce en la parte final del mismo, sin que exista una muda pupal. Por ello sería más correcto el nombre de ninfas en lugar de larva (I, II y III) y ninfa IV para la pupa (Gill 1990). Sin embargo, la terminología larva-pupa sigue siendo la más utilizada en la actualidad (Carapia y Castillo 2013).

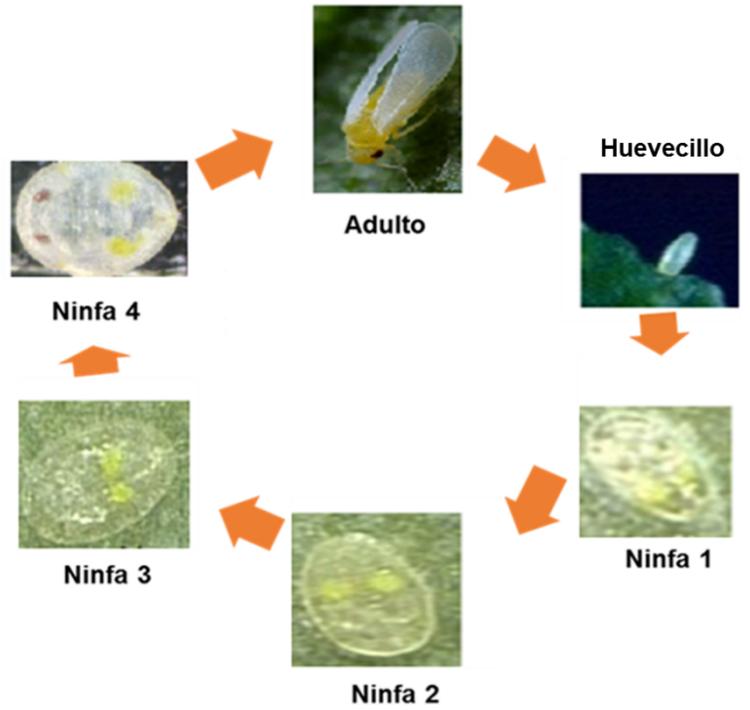


Figura 1. Ciclo de vida y reproducción de *Bemisia tabaci* (Chaubey y col 2015).

El huevecillo es elíptico e inicialmente de un tono amarillo blanquecino y según va evolucionando va adquiriendo un tono marrón-rojizo. La hembra coloca los huevos en posición vertical o circular y generalmente en el envés de las hojas (Figura 2). Los huevecillos se hayan recubiertos por una secreción pulverulenta de color blanco. Miden unos 0.16 mm de longitud por unos 0.072 mm de diámetro (Gómez-Menor 1944). En función de la especie de planta huésped los puede colocar de forma aislada o bien en grupo. En este último caso la hembra, tras clavar su estilete en la hoja y a la vez que se alimenta, gira alrededor de su estilete, el cual usa como eje de rotación, colocando así una hilera de huevos que tiene forma de circunferencia (Carapia-Ruiz y Castillo-Gutiérrez 2013). La eclosión puede presentarse de entre 5 a 10 días después (Byrne y Bellows 1991). En los insectos exopterigotos (aquellos que tienen una metamorfosis simple o incompleta) los estados juveniles se denominan ninfas y no existe estado pupal.

La ninfa (larva) I (larva del primer estadio) fija, es la que emerge del huevo, tiene forma elíptica de color blanco verdoso ventralmente plana y dorsalmente convexa, es móvil (caminante) después de que ésta se fije a la superficie de la hoja. Los ojos ocupan los márgenes cefálicos y aparecen como dos pequeñas manchas rojas, el aparato bucal se compone de dos pares de estiletes que conforman las maxilas y las mandíbulas. Se encuentra ventralmente entre dos patas delanteras, posee patas bien desarrolladas (Gómez Menor y col 1994; 1989), cuando se fija, repliega sus patas y antenas, clava su estilete bucal y empieza a alimentarse. También se produce un endurecimiento del exoesqueleto de la ninfa (SAEPI 2009). A la ninfa I fija tras una muda la sucede la ninfa II (larva de segundo estadio).

La ninfa II exteriormente es muy similar a la ninfa I, diferenciándose únicamente en que la ninfa II es de un tamaño algo mayor (Gómez Menor y col 1994; 1989).



Figura 2. Huevecillos de *Bemisia tabaci* fijados a la superficie de la hoja por el estilete, puestos en forma circular (Bayer CropScience 2014).

La ninfa III, surge tras producirse una segunda muda. Dimensiones con 0.53 mm.de longitud y 0.36 mm.de anchura de aspecto muy similar a esta última (Gómez Menor y col 1994,1989).

Finalmente, tras una tercera muda, aparece el último estadio larvario, la ninfa IV o pupa, que se diferencia del anterior estadio en que la ninfa IV es de mayor tamaño. Según esta descripción podemos decir que los diversos estadios larvarios por los que pasa *B. tabaci* en su desarrollo se diferencian básicamente en el tamaño de los sucesivos estadios, ya que exteriormente son muy similares (SAEPI 2009).

La pupa presenta diversas modificaciones respecto al estadio anterior; los ojos se vuelven compuestos y de color rojo. El cuerpo es de color amarillo y de forma más o menos elíptica. A ambos lados del cuerpo y en el interior de este, pueden verse dos bandas de color blanco que son las alas. Mantiene una coloración más opaca que en el estado larval, aunque las pupas parasitadas toman un color más oscuro (SAEPI 2009). Tras el desarrollo de la pupa, el adulto emerge tras abandonar el exuvio a través de una apertura en forma de T practicada en la parte posterior de ésta. Tras emerger el adulto tiene las alas replegadas, las cuales extiende en poco tiempo. El cuerpo del adulto es de color amarillo y las alas de color blanco (Figura 3). Cuando se encuentra en reposo mantiene las alas plegadas formando una especie de tejadillo, después de la emergencia secreta una sustancia cérea con la cual recubre sus alas y parte de su cuerpo. Los ojos son compuestos y de color rojo. La hembra adulta generalmente es de mayor tamaño que el macho. Además, se diferencia de este último en la forma del abdomen, ya que el de la hembra tiene una forma más o menos globosa y oval mientras que el del macho tiene una forma más apuntada (SAEPI 2009). Los adultos son alados y los estadios inmaduros, después del primer instar son sésiles, aplanados y parecidos a escamas, miden de 1 a 2 mm de longitud y son de color blanco (Mound 1983).



Figura 3. Adultos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Bukovinszky 2004).

Bemisia tabaci tiene 31 biotipos documentados (Lee y col 2013) (denominados con letras en secuencia, desde la A hasta la S) (Perring 2001), de los cuales al menos seis están en América (Brown 1993; Brown y col 1995; De Barro y Driver 1997). Los más difundidos son el A (biotipo “original” en América), el B (originario del Viejo Mundo) y el Q (localizado en la cuenca del mar Mediterráneo) (Perring 2001). Casi todos los estudios bioecológicos: ciclos de vida, fisiología, comportamiento, ámbito de hospedantes, relaciones insecto - planta y enemigos naturales se han realizado con los dos primeros biotipos (Perring 1996).

Existen, además, diversos biotipos identificados en todo el mundo y que muestran diferencias en lo que refiere, entre otros aspectos, a hospedadores, parámetros biológicos y capacidad de transmisión de virus (Oliveira y col 2001; Perring 2001; De Barro y col 2005).

4 Biotipos

El término biotipo, aplicado a los insectos, se usa para distinguir entre dos o más poblaciones morfológicamente similares o indistinguibles, pero que difieren entre ellas en cuanto a la preferencia de hospedante, tiempo de desarrollo, resistencia a insecticidas y otras características de importancia biológica o ecológica (Bush 1994). Las especies del complejo se pueden distinguir por la secuenciación del gen mitocondrial CO1. Los análisis de esas secuencias muestran que la diferencia genética de las poblaciones de *Bemisia tabaci* corresponde al origen geográfico excepto para dos especies que se encuentran en todo el mundo (Guirao y col 1997; De Barro y col 2005; De la Rúa y col 2006; De Barro y col 2011; Hu y col 2011; Alemandri y col 2012; De Barro 2012).

Se han distinguido varias especies de *Bemisia tabaci*, con base en su ubicación geográfica, a los hospedantes que atacan, a características morfológicas y a esterasas marcadoras (Brown 1993; Bedford y col 1994). Hasta 1992 se habían

reportado en América Central los biotipos B, C, D y F (Brown 1993; Brown y col 1995). Debido a la gran similitud morfológica (Bethke y col 1991) la especie *Bemisia tabaci* muchas veces comprende un complejo de razas o, según ciertos autores, un complejo de especies (Bellows y col 1994; Perring y col 1993).

El biotipo B fue documentado en 1988 (Costa y Brown 1991) y era el más disperso en el mundo hasta que fue identificado el biotipo Q en algunas regiones del Mediterráneo (De Barro y col 2010), éste ha desplazado al B de varios países debido a que posee resistencia al insecticida piriproxifen (llamado comercialmente Knack) muy utilizado en cultivos agrícolas, y a neonicotinoides, mientras que el biotipo B es susceptible a ellos (Horowitz y col 2005).

La prevalencia del biotipo B en cultivos de algodón es mayor que el biotipo Q, el cual ha tenido impacto sobre la resistencia al piriproxifen, por lo que, en cultivos protegidos, donde los regímenes químicos son comunes, el biotipo Q ha sido predominante. La resistencia al piriproxifen ha sido detectada en Israel desde los años noventa (donde no se detectó resistencia del biotipo B a este insecticida) (Horowitz y col 2002, 2005, 2014). Sin embargo, una alta resistencia para *B. tabaci* ha sido encontrada, con un decremento en el uso de insecticidas. Este descenso ha resultado en que el biotipo B sin la selección de insecticidas suele ser más competitivo que el biotipo Q, por lo que el uso constante de insecticidas animaría el desarrollo del biotipo Q (Horowitz y col 2014).

El biotipo B de *Bemisia tabaci* se caracteriza por poseer una mayor fecundidad (Bethke y col 1991) que le confiere la capacidad de desplazar poblaciones previamente establecidas de otros biotipos, lo que eventualmente podría producir cambio en la epidemiología de los virus que transmiten (Cohen y col 1992). Esta especie produce una o varias toxinas que provocan en los hospedantes síntomas que le son particulares (Yakomi y col 1990; Brown y col 1992; Cohen y col 1992; Costa y col 1993; Bedford y col 1994).

La mosca blanca biotipo B, fue identificada por primera vez como una nueva cepa de *B. tabaci* cuando apareció en América a mediados de la década de 1980 (Brown y col 1995a). Se diferenciaba de la cepa nativa de *B. tabaci* por la capacidad de sus larvas para inducir un trastorno citotóxico “hoja plateada de la calabaza” (Costa y Brown 1991) y por su perfil distintivo de esterasa (Bedford y col 1994), aunque esta última característica no es infalible (Byrne y col 1995). Hasta 1994, fue universalmente conocido como biotipo B de *Bemisia tabaci*, Bellows y col (1994) lo describieron como una especie separada, nombrándola como *B. Argentifolii*, esta decisión fue un tema polémico entre los investigadores y los taxonomistas en todo el mundo, debido a que el nombramiento del biotipo B como *B. Argentifolii* se basaba en una comparación con la cepa americana nativa (el biotipo A) y no entre los muchos otros biotipos que estaban siendo identificados en todo el mundo (Bedford y col 1994a).

Un estudio realizado por Rosell y col (1997), donde utilizó SEM (microscopía electrónica de barrido) para examinar los caracteres morfológicos documentados por Bellows y col (1994) para la identificación de *B. argentifolii*, mostraron que la mayoría de las poblaciones del Viejo Mundo de *B. tabaci* eran morfológicamente indistinguibles del biotipo B. Estas poblaciones del Viejo Mundo no indujeron trastornos hoja plateada o patrones de esterasa de bandas similares a las del biotipo B. Sin embargo, en el Nuevo Mundo, el biotipo B ha sido aceptado fácilmente como una nueva especie, *B. argentifolii* (De Barro y col 2005). Sin embargo, hay datos moleculares y biológicos insuficientes para apoyar la separación de *B. tabaci* y *B. argentifolii* como especies diferentes (De Barro y col 2005).

Los biotipos B y Q de *Bemisia tabaci* han sido descritos como transmisores específicos del TYLCV (Brown y col 1995). El biotipo B es el más extendido alrededor del mundo, mientras que el Q es el más extendido en la cuenca mediterránea, estando presente también en Asia y América. Ambos biotipos pueden coexistir en el mismo cultivo, siendo el biotipo Q el más resistente a

insecticidas (Horowitz y col 2005; Arnó y col 2008). La importancia de la identificación de los biotipos de *B. tabaci* se relaciona con un control específico de esta plaga en cosechas, así como la pronta respuesta al manejo de las mismas (Kang y col 2012).

5 Importancia económica y daños ocasionados

Varios cultivos han sido afectados económicamente por mosca blanca en diversos lugares del mundo como, por ejemplo, en Nigeria, más del 90% de pérdidas en caupí (*Vigna unguiculata*), han sido atribuidas a un mosaico amarillo transmitido por *B. tabaci* (Rizk y Ahmed 1981).

En Sinaloa, en el ciclo hortícola otoño-invierno 2014-2015, se presentaron daños dramáticos en algunas variedades de cultivo de tomate muestreadas en el valle de Guasave, Ahome, Mocorito y Culiacán, con pérdidas hasta del 100% por enfermedades causadas por TYLCV (Méndez y col 2016). La peor crisis ocasionada por este mismo virus, se presentó en el ciclo agrícola 2005-2006, en Sinaloa, en el 30% de la producción, donde los productores de tomate calcularon sus pérdidas en 300 millones de dólares (Bayer de México 2009).

La mosquita blanca (*B. tabaci*: Biotipo B) tanto en el invernadero como en el campo, ha sido considerada como la plaga de mayor impacto en las hortalizas en México y otras regiones del mundo, por ser un importante transmisor de enfermedades virales. El vector puede alcanzar una eficiencia de transmisión del virus del 85-90% cuando la enfermedad es adquirida en la etapa de planta (Rosset 1986).

En México, durante los últimos 10 años los cultivos hortícolas han sido afectados por geminivirus transmitidos por mosquita blanca (*Bemisia tabaci* Genn. o *B. argentifolii*, Bellows and Perring) (Torres-Pacheco y col 1996). En los estados de Jalisco, Guanajuato y San Luis Potosí, en donde se cultiva el 20%

de la superficie de chile y el 10% del tomate a nivel nacional, estos patógenos han dañado del 30 al 40% del área sembrada (Garzón-Tiznado 1995).

a Como plaga

Succiona la savia de la planta de la cual se alimenta, tanto por los adultos como por las ninfas, manifestándose un debilitamiento y marchitamiento del vegetal (Berlinger 1986), segregando sustancias nucleosomas que sirven de substrato al hongo que causa la fumagina, el cual tiene un efecto adverso en la fotosíntesis, al impedir la llegada de luz a la superficie foliar (CIAT 1986). Este hongo ensucia y torna pegajosas las hojas de la planta (hojas, flores, frutos, etc.) reduciendo la tasa fotosintética y el valor comercial de las partes vendibles (Berlinger 1986), maduración irregular de los frutos como el tomate (Schuster y col 1990), transmisión de enfermedades virales (Muniyappa 1980) y también inyecta toxinas a la planta en el momento en que se alimenta. Es una plaga de mucha importancia económica, por las pérdidas que se derivan de las enfermedades producidas por los virus que transmite (Sponagel y Funez 1994).

b Como vector

El daño más importante producido por mosca blanca, es el indirecto, por medio de la transmisión de enfermedades virales, provocadas principalmente por geminivirus. Dichas enfermedades pueden reducir hasta un 100% los rendimientos del cultivo del tomate si la infección se produce en los primeros 40 o 50 días, después de la germinación de las plantas (Lastra 1993). *Bemisia tabaci* es capaz de transmitir gran cantidad de virosis, de entre ellas un buen número afectan al tomate. Se conoce su eficacia en la transmisión de enfermedades como: Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV), Tomato Yellow Mosaic Virus (TYMV), Tomato Leaf Curl Virus (TLCV), Chino del tomate (CdTV), Tomato Golden Mosaic Virus (TGMV); de todas estas virosis, la primera es en la actualidad, el más extendido y pernicioso en las áreas mediterráneas, al originar una parada casi total en el desarrollo de las plantas

afectadas (INFOAGRO 2014). Eventualmente, las altas poblaciones de *B. tabaci* comenzaron a transmitir virus de plantas no cultivadas a las cultivadas, pues este insecto transmite más de 200 virus diferentes, principalmente Begomovirus, como el virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV) y el virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV), entre otros (Vazquez y col 2007). El problema actual con *B. tabaci* obedece básicamente a los siguientes factores: sus poblaciones desmesuradas y a la asociación con geminivirus, que por reproducirse en el floema de las plantas son muy dañinos (Hilje 1996), entre estos tipos de geminivirus se ha detectado el del mosaico dorado del frijol y el del mosaico amarillo del tomate. Las densidades altas dependen básicamente del potencial reproductivo, fecundidad, tiempo generacional y proporción de sexos (Hilje 1996).

B FAMILIA GEMINIVIRIDAE

Los geminivirus son agentes fitopatógenos de importancia económica en México y casi en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo, esto debido a que disminuyen el rendimiento de los cultivos que afectan (Brown 1994). Cuando el geminivirus ingresa a la célula hospedera se desencapsida, posteriormente, el material genético ingresa al núcleo, una vez allí se replica y se transcribe, estos procesos requieren energía y proteínas las cuales provienen de la célula hospedera (Vega y Rivera 2001).

En México, la primera mención de una enfermedad posiblemente causada por geminivirus se realizó durante el ciclo agrícola 1970-1971. En el estado de Sinaloa se describió una enfermedad en tomate cuyo síntoma característico era el enchinamiento de las hojas, posteriormente, se confirmó que el agente causal de esa enfermedad era un geminivirus que se denominó, siguiendo la tradición de los virus de planta, virus chino del tomate (CdTV) (Brown y Nelson 1988). Los geminivirus, son la segunda familia viral de menor tamaño que afectan a las plantas, pues tienen un diámetro de 30 nm y de largo entre 18 y 20 nm (ICTV

2006; Ramos 2004), además presenta una cápside en forma de dos icosaedros iguales incompletos unidos por una de sus caras, dándole una forma geminada, de ahí se deriva su nombre “gemini=gemelos” (Ramos 2004). Este tipo de virus deben su nombre a la apariencia geminada de su cápside, observada al microscopio electrónico (Lazarowitz y Lanza 1991) (Figura 4). La estructura icosáedrica externa está recubierta por 220 subunidades proteicas (Zúñiga y Ramírez 2002), y en su interior presenta un genoma de ADN de cadena simple (ssADN) en forma circular. El material genómico de los geminivirus puede ser monopartito, donde la información genética está ubicada en un solo componente, o bipartito, es decir que su material genómico está distribuido en dos componentes, cada uno de los cuales tiene una longitud entre 2500 a 3000 nucleótidos (0.7 a 0.9×10^6 gramos por mol, g/mol) (Flores 2003; Ramos 2004). Sin embargo, este tipo de genomas bipartitos es más común en los begomovirus. Su genoma total puede transcribir y traducir hasta ocho proteínas que se pueden encontrar codificadas en sentido positivo (viral) o negativo (complementario) de acuerdo a la posición que se encuentren los marcos de lectura abiertos (MLA ó ORF por sus siglas en inglés) que son secuencias de nucleótidos que se encuentran entre un codón de inicio y un codón de parada, que posiblemente traducen una proteína (Zúñiga y Ramírez 2002; Ramos 2004).

Los geminivirus en su región intergénica presentan una horquilla de 30 nucleótidos (nt) en los monopartitos y 46 nt en los bipartitos (Ramos 2004) y un área nanométrica (secuencia invariable de nueve nucleótidos) (TAATATTAC) formando el asa de la horquilla, donde se ha demostrado que la variación o mutación de esta pequeña región origina la inhibición de la replicación viral ya que esta zona es un elemento de especificidad para el reconocimiento del origen de la replicación (Martínez 1998; Faría y Nava 2007; Bridson y col 2010).

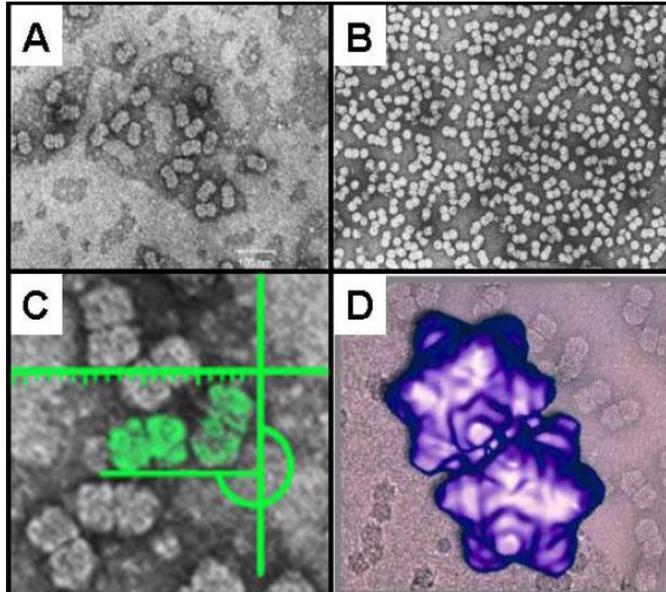


Figura 4. Micrografía electrónica de geminivirus. **A**, **B** y **C** partículas virales geminadas. **D**; geometría de las partículas geminadas (Ruelas 2007).

Otra secuencia invariable de importancia que interviene en el reconocimiento para el acoplamiento de la proteína que acelera la replicación viral (REP), es una secuencia repetida (5' GGTAGTAAGGTAG) que está ubicada de ocho a nueve nucleótidos debajo de la secuencia TATA (Martínez 1998).

La familia *Geminiviridae* está constituida por 7 géneros (Cuadro 1) que son los *Becurtovirus* (2 especies), *Begomovirus* (288 especies), *Curtovirus* (3 especies), *Eragrovirus* (1 especie), *Mastrevirus* (29 especies), *Topocovirus* (1 especie) y *Turncurtovirus* (1 especie) (ICTV 2016).

En uno de los primeros trabajos desarrollados por el grupo de Virología Vegetal del Cinvestav sugirió que algunas enfermedades como el “enchinamiento del tomate en Sinaloa y “planta atigrada” o “rizado amarillo del chile” en Tamaulipas eran causadas por geminivirus (Garzón Tiznado y col 1989). En la península de Yucatán se realizó un escrutinio para analizar la distribución de geminivirus, debido a que se reportaban pérdidas de hasta el 95% en cultivos de chile (Ascencio Ibañez y col 1999; Díaz Plaza y col 2002; Díaz Plaza 2003), los resultados obtenidos en este escrutinio fueron positivos para el virus huasteco del amarillamiento de las venas del chile (PHYVV) y el virus del mosaico dorado del chile (PepGMV) y, además, se detectaron otros geminivirus previamente caracterizados en países vecinos: el virus del moteado del tomate (ToMoV, *tomato mottle virus*), el virus del mosaico dorado del frijol (BGMV) y el virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV) (Ramos y col 1996; Polston 1999).

1 Mastrevirus

Su genoma está organizado en una sola molécula (monopartita) y su tamaño varía de 2.6 a 2.8 Kb, el genoma de este virus codifica para 3 ó 4 marcos de lectura abiertos (ORF) que codifican las proteínas V1, V2 Y C1, C2).

Cuadro 1. Clasificación de los miembros de la familia *Geminiviridae*.

Género	Organización genómica	Principal Huésped	Insecto vector	Especies identificadas
Mastrevirus	Monopartita	Monocotiledóneas y dicotiledóneas	Chicharritas	29
Curtovirus		Dicotiledóneas	Chicharritas	3
Topocuvirus		Dicotiledóneas	Trepadores de hojas	1
Becurtovirus		Dicotiledóneas	Chicharritas	2
Eragrovirus		Monocotiledóneas	Desconocido	1
Turncurtovirus		Dicotiledóneas	Desconocido	1
Begomovirus	Monopartita y bipartita	Dicotiledóneas	<i>Bemisia tabaci</i>	288

Los miembros de este género se transmiten por chicharritas (Hemíptera: *Cicadellidae*) de manera persistente circulativa no propagativa e infectan plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas (Figura 5a). Se han reportado solamente 11 especies tentativas. Especie tipo: Virus del estriado del maíz (MSV) (Fauquet y Stanley 2005).

2 Curtovirus

Su genoma monopartita mide alrededor de 2.9 a 3 Kb, codifican de 6 a 7 proteínas dependiendo la especie (Figura 5d). Estos virus se limitan al floema de la planta y son transmitidos por chicharritas (Hemíptera: *Cicadellidae*) de manera circulativa no propagativa e infectan plantas dicotiledóneas. Este género presenta cinco especies definidas de las cuales tres infectan betabel, una el cultivo de rábano y la otra, espinaca. Especie tipo: Virus del ápice rizado de la remolacha (BCTV) (Fauquet y Stanley 2005).

3 Topocuvirus

Su genoma monopartita codifica seis proteínas, las cuales están relacionadas a las de los Curtovirus. Los Topocovirus (Figura 5e) se transmiten por insectos de la familia *Membracidae* (Hemíptera: *Micrutalis malleifera*, Fowler) (trepadores de hojas) e infectan plantas dicotiledóneas (Stoner y Ogan 1950). Sólo se conoce una especie definida en este género, el *Virus del pseudoenrollamiento del ápice de la remolacha* (TPCTV) (Fauquet y Stanley 2005).

4 Becurtovirus

Este género contiene 2 especies reconocidas: *Beet curly top Iran virus* y *Spinach curly top Arizona virus* (SCTAV). Los miembros de ambas especies son inusuales en que en lugar del nonanucleótido 'TAATATTAC' que se encuentra en el origen de la replicación de la cadena del virión en casi todos los geminivirus conocidos, estos tienen un nonanucleótido 'TAAGATTCC'.



Figura 5. Organización genómica de la familia Geminiviridae. (LIR, región intergénica larga; SIR, región intergénica corta; CR, región común; rep, proteína asociada a la replicación; ren, potenciador de replicación; trap, proteína transactivadora; ss, supresor de silenciamiento; sd, determinante de los síntomas; cp, proteína de la cápside; mp, proteína de movimiento; reg, gen regulatorio; NSP, proteína de transporte nuclear (Buchmann y col 2009; Luna y col 2012; Wang y col 2014).

Se transmiten por chicharritas. Los aislados pertenecientes a estas dos especies tienen genomas que comparten una identidad de entre 77 y 78%. El virus de la hoja enrollada de la remolacha de Irán (BCTIV) tiene 28 secuencias del genoma completo, todos comparten 88.7% de identidad a escala del genoma por pares y se han encontrado exclusivamente en Irán (Figura 5c). El único aislado SCTAV que hasta el momento ha sido secuenciado completamente se encontró que infecta plantas de la especie *Spinacia oleracea* en Arizona, EE.UU. (Yazdi 2008; Bernardo y col 2013; Heydarnejad y col 2013).

5 Eragrovirus

Se ha reconocido sólo una especie perteneciente a este género, *Eragrotis curvula streak virus*. Todos los aislados conocidos que pertenecen a este aislado; *Eragrotis curvula streak virus* (ECSV) tienen una inusual secuencia motivo de nonanucleótido "TAAGATTCC" a su origen virión de cadena de replicación (Figura 5b). Este geminivirus aislado comparte el 91.6% de secuencia de identidad de todo el genoma, y la distribución de las identidades entre los 15 pares únicos de estos virus (Varsani y col 2014).

6 Turncurtovirus

Turnip curly top virus es actualmente la única especie dentro de este género. Las 20 cepas pertenecientes a esta especie que se conocen hasta el momento han sido todas estudiadas ya sea de *Brassica rapa* o *Raphanus sativus*. *Turnip curly top virus* (TCTV), sin embargo, también se ha detectado por PCR en *Descurainia sophia*, *Anchusa* sp., *Solanum americanum* e *Hibiscus trionum* (Figura 5f). Todos los 20 aislados del conocido TCTV tienen el mismo "motivo de secuencia" 'TAATATTAC' nonanucleótido que se encuentra en los orígenes de la cadena de viriones de replicación de mastrevirus, begomovirus, curtovirus y topocuvirus (Bridson y col 2010; Varsani 2013; Razavinejad y Heydarnejad 2013).

7 Begomovirus

El género Begomovirus es el único género de la familia que cuenta con genomas monopartitas o bipartitas (Figura 5g y h) (Padidam y col 1999), es el grupo más numeroso, con 288 especies definidas (ICTV 2016). Los virus clasificados dentro del género *Begomovirus* se caracterizan por tener uno o dos componentes de ADN cadena sencilla, el vector biológico es *Bemisia tabaci* Genn. (Homóptera: *Aleyrodidae*) e infectan plantas dicotiledóneas (Rojas y col 2005).

a Descripción y características

Los Begomovirus originarios del nuevo mundo tienen su genoma organizado en dos moléculas (bipartitas) llamadas ADN A y ADN B, mientras que los del viejo mundo pueden tener su genoma bipartita o en una sola molécula (monopartita), se transmiten por mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) e infectan plantas dicotiledóneas (Brown 1997; Fauquet y col 2003; García y col 2007). Los miembros del género *Begomovirus* se caracterizan por tener uno o dos componentes de ADN circular cadena sencilla, su tamaño varía entre 2.5 a 3.0 Kb (Rojas y col 2005; Seal y col 2006; Jeske 2009). Los Begomovirus bipartitas (Figura 5a), poseen dos componentes denominados ADN A y ADN B respectivamente, el componente A (ADN A), contiene marcos de lectura abierta (MLA u ORF por sus siglas en inglés Open Reading Frame) para funciones como replicación, transactivación y encapsidación del virus (Gutiérrez 2000). Contiene 5 genes que codifican para diversas funciones: la proteína viral de replicación (Rep) tiene una fuerte competencia con la secuencia repetida (GGTAG), que se encuentra en la región 3' del ADN del hospedero. Tras la unión con el origen de la replicación, la secuencia conservada de nucleótidos (TAATATT-AC), libera 3 moléculas OH, que inician la replicación del círculo rodante de la maquinaria de replicación del hospedante (Fontes y col 1994); en este componente se localizan también los genes que codifican la proteína de la

cápside (CP), la cual es indispensable para la transmisión del virus a través del insecto vector, ya que es la proteína que encapsida al ADN. En el componente A se encuentran de cuatro a cinco MLA en sentido reverso (complementario) y de uno a dos MLA en sentido directo o del virión. En el componente B (cuando está presente) se encuentran dos MLA. Ambos componentes son completamente diferentes en su secuencia excepto por unos aproximadamente 200 nt de la región intergencia no codificante localizados en la llamada región común (Lazarowitz 1992). La secuencia de la región común es idéntica tanto en el componente A como en el componente B de cualquier simple bipartita, pero es diferente en cualquier otro geminivirus con excepción de una secuencia de alrededor de 30 nt (GGCCA(t/a)CCGN(t/a)(t/a)TAATATTACCGG(t/a)TGCC) (Figura 6).

El componente A contiene los genes requeridos para la encapsulación de la progenie o viriones para la replicación del ADN viral y el componente B contiene los dos genes requeridos para el movimiento sistémico viral en la infección de la planta hospedante. En la región intergénica o región no codificante se encuentra la mayoría de las secuencias conservadas reguladoras (cajas TATA, cajas G, motivos CAAA, etc.) que permiten la transcripción de los genes de manera divergente y estructura en horquilla con un tallo rico en G-C y un asa rica en A-T. En la estructura tallo-asa se encuentra el origen de replicación (TAATATT↓AC) y el punto de inicio (↓) de la síntesis de la cadena complementaria. Además, en la misma región se han identificado secuencias adicionales involucradas en la replicación llamadas iterones o elementos repetidos. La CP es determinante en la acumulación del ADN viral dentro de los tejidos infectados, al ser la proteína viral más abundante, además de intervenir en la regulación de la función de la replicación (Rep) (Singh y col 2005).

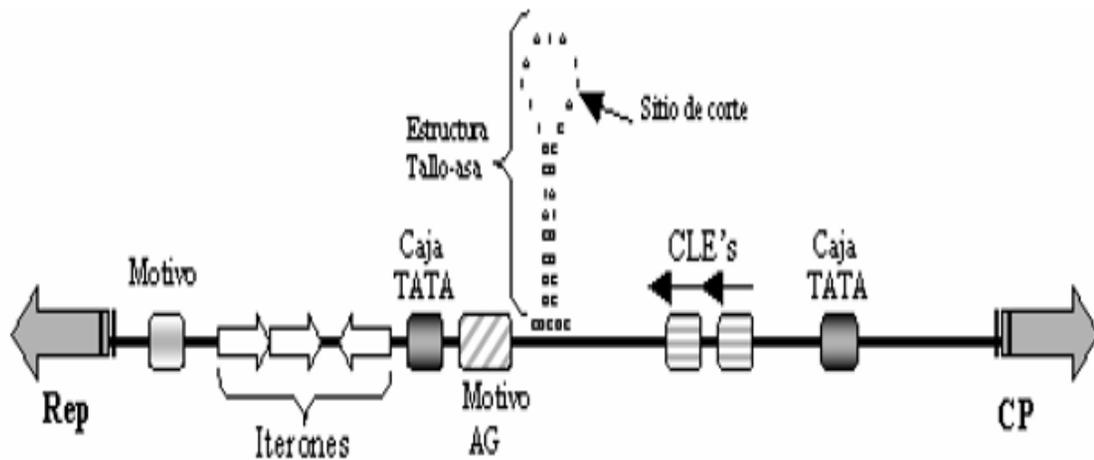


Figura 6. Esquema de la región intergénica del componente A de un geminivirus bipartita típico. Se observan los sitios de unión de las proteínas Rep (iterones) y los sitios de acción de diferentes reguladores de la transcripción (motivos, CLE) y la estructura tallo-asa y el sitio de corte para el inicio de la replicación (Singh y col 2005).

En los begomovirus el marco de lectura del gen Trap codifica para una proteína que transactiva la expresión del gen de la proteína de la cápside y de la proteína de movimiento (MP), además de tener la función de supresor de silenciamiento en Trap para el caso de begomovirus bipartitas y C2 para monopartitas (Bisaro 2006); la proteína Ren es codificada por el gen AC3, el cual es un factor de amplificación de la replicación viral y está asociado en la acumulación de ADN viral, es por esto que se dice que Ren potencia la replicación de ADN viral (Hanley y col 1999; Ascencio-Ibáñez y col 1999; Rojas y col 2005).

El componente B (ADN B) contiene un marco de lectura abierto (MLA) del gen MP o BC1 que codifica para una proteína involucrada en el movimiento célula a célula, llamada proteína de movimiento (MP), localizada entre la pared celular y la membrana plasmática por su afinidad con el ADN de cadena doble y sencilla. La MP puede alterar el límite de exclusión de los plasmodesmos (Lazarowitz 1992).

El gen BV1 o NSP codifica para la proteína de transporte nuclear, la cual tiene afinidad al ADN viral de cadena doble y sencilla, empaquetándolo y transportándolo del núcleo al citoplasma y viceversa.

El gen BC1 o MP codifica para la proteína de movimiento (MP), la cual tiene afinidad con los plasmodesmos (Sanderffot y Lazarowitz1996; Link y Fuchs 2005). El origen de la replicación de los begomovirus se encuentra en la región intergénica (IR), por un motivo situado en el sitio de unión de la replicación y por una estructura tallo asa, que corresponde a la zona donde se inicia la escisión del ADN para iniciar la replicación por circulo rodante (Florentino y col 2008).

En los Begomovirus monopartitas el genoma posee MLA para funciones de replicación, transactivación, potenciador de la replicación, proteína de la cápside y determinante de la patogenicidad. Los MLA en estos virus se

encuentran sobrelapados bidireccionales y distribuidos en dos unidades transcripcionales divergentes que se encuentran separadas por una región intergénica (Hanley y col 1999; Ascencio Ibáñez y col 2000; Rojas y col 2005).

La transmisión de los begomovirus por *B. tabaci* es circulativa o persistente (Harrison 1985; Polston y Anderson 1997; Brown 2003a). Este tipo de transmisión tiene dos fases: la adquisición, cuando el insecto se alimenta de alguna planta infectada y el virus se transporta del aparato bucal al hemoceloma del insecto. Probablemente a través de la pared del intestino. Por ende, para adquirir un begomovirus de una planta infectada o transmitirlo a una planta hospedante, los estiletes de *B. tabaci* necesitan encontrar un camino entre las células epidermales y parenquimales antes de la penetración hacia los tejidos vasculares y alcanzar el floema para alimentarse (Pollard 1955). Una vez ingerido, los begomovirus no están inmediatamente listos para infectar. Estos necesitan traslocarse del tracto digestivo a las glándulas salivares para lo cual son excretados por medio de la saliva durante la alimentación, el tiempo que toma para que un begomovirus complete este paso e infecte a plantas susceptibles es llamado periodo de latencia. Este periodo, no puede reflejar la rapidez de translocación del virus sino más bien el tiempo que toma para que un insecto acumule suficientes viriones para ser capaz de transmitir la enfermedad a las plantas. Para algunos begomovirus este límite puede ser alcanzado más rápido que para otros (Rosell y col 1999). Y la segunda fase de inoculación a la planta, que involucra el paso del virus desde la hemolinfa hacia las secreciones salivares del insecto, lo que permite la transmisión del patógeno cuando el insecto se alimenta de las plantas (Liu y col 1997).

El tiempo aproximado en que el virus llega a ser circulativo en el insecto es de 4-8 horas después de que lo adquiere (Mehta y col 1994). El período de transmisión incluye el tiempo durante el cual el patógeno circula dentro del vector hasta la transmisión del virus (Harrison 1985). Después de la inoculación del virus en la planta por el insecto vector, se inicia el ciclo infectivo con la

introducción del ADN viral al núcleo de la célula huésped, es empaquetado dentro del nucleosoma, donde se utiliza la maquinaria de la célula huésped para sintetizar un ADN de doble cadena o forma replicativa (FR). La unión de Rep con la secuencia conservada de nucleótidos (TAATATT/AC) es el punto de inicio de la replicación por círculo rodante, donde las FR (formas replicativas) promueven la síntesis de un ADN de cadena sencilla, que inicia el proceso de transcripción y amplificación de genomas virales (Yadava y col 2010). En una ronda de doble cadena o FR, para servir a una nueva ronda de replicación o ser encapsidado como una partícula geminada (Jeske 2007).

No todos los hospedantes son igualmente preferidos, *B. tabaci* es polífaga y tiene preferencias por ciertas familias, ataca a 16 cultivos y 70 hospedantes en 39 familias, predominando las *Compositae*, *Solanaceae*, *Cucurbitaceae*, *Malvaceae*, *Euphorbiaceae* y *Fabaceae* (Hilje 1995). A este grupo de begomovirus pertenecen virus de gran importancia económica que causan pérdidas cuantiosas a los productores agrícolas de muchos países, tal es el caso del *Virus del rizado amarillo del tomate* (TYLCV). El miembro tipo es el *Virus del mosaico amarillo del frijol* (BGMV) (Fauquet y col 2003). Existen reportes de TYLCV afectando cultivos como chile (*Capsicum annum* y *Chinense*), frijol, tabaco, plantas ornamentales y maleza (Sánchez Campos y col 1999; Morilla y col 2005).

C VIRUS DEL RIZADO AMARILLO DEL TOMATE (TYLCV) Y VIRUS HUASTECO DE LA VENA AMARILLA DEL CHILE (PHYVV)

El *virus del rizado amarillo del tomate* (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV, por sus siglas en inglés) es un begomovirus monopartita que ha tomado gran importancia en el mundo debido a los daños devastadores que ha registrado (Lefeuvre y col 2007).

El TYLCV fue identificado por primera vez en Israel en 1939 (Picó y col 1996), y debido a que continúa propagándose en el mundo se han reportado

numerosos aislados (Lefeuvre y col 2007), tales son los casos de diferentes países de Mediterráneo y África (Brown 1994). Induce enfermedades que limita la producción del tomate en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Moriones y Navas Castillo 2000), donde se han reportado pérdidas en rendimiento hasta del 100%, esto es común sobre todo cuando las plantas son infectadas en las primeras etapas fenológicas del cultivo (Nakhla y col 1999; Moriones y Navas Castillo 2008). Este virus se transmite de una manera persistente por su insecto vector *Bemisia tabaci*. Después de su caracterización molecular en 1988 se ha demostrado que TYLCV-IL se ha extendido en todo el mundo (Martínez y col 1996; Picó y col 1996; Navas Castillo y col 1999; Wu y col 2006), se tienen dos versiones de su introducción en el nuevo mundo; a través de la República Dominicana en la década de los 90s (Nakla y col 1994; Polston y col 1994) ó a través de Cuba (Martínez y col 1996; Quiñonez y col 2001) posiblemente en un traslado de plantas de tomate de Israel (Polston y col 1999). El TYLCV posteriormente se propagó a otras islas del Caribe y de América del Norte (Morales 2006).

Se han obtenido recientemente aislados de TYLCV del oeste de América del Norte (WNA, desde Sinaloa, México, y California) que no están estrechamente relacionados con otras cepas de TYLCV del Nuevo mundo (América) (Brown y col 2006).

Recientemente se ha debatido la idea de que este begomovirus se replica dentro de su insecto vector (*Bemisia tabaci*); investigaciones realizadas han concluido que el TYLCV si se replica dentro del insecto, debido a que al adquirir partículas virales éstas permanecen y aumentan su concentración los primeros días (Pakkianathan y col 2015). En contraste, en otros estudios, se ha demostrado que la transmisión es no propagativa (Harrison 1985; Polston y Anderson 1997). Está documentado que la proteína de la cápside (CP) es esencial para su infectividad, ésta proteína se une y envuelve el genoma localizado en el núcleo de las células infectadas y se ha encontrado que tiene

capacidad de exportar tanto ssADN como ADN de cadena doble (sdADN) (Gronenborn 2007).

El genoma del TYLCV es monopartita, el cual posee un tamaño de aproximadamente 2.8 Kb, contiene seis marcos de lectura abiertos (ORFs) parcialmente traslapados (

Figura 7) (Fauquet y Stanley 2005). Dos ORFs se encuentran en el sentido del virión y 4 en antisentido o cadena complementaria y una región intergénica (RI) de 313 nucleótidos.

En la cadena del sentido del virión se encuentran dos marcos de lectura abierta que codifican para la proteína de la cápside V2 (preCP) y la proteína de la cápside V1 (CP) (Kallender y col 1988). En el sentido de la cadena complementaria se encuentran cuatro marcos de lectura abierta que son denominados C1, C2 C3 y C4.

El gen C1 o *Rep*, es una proteína multifuncional, posee actividad de endonucleasa y ATPasa, interactúa con reguladores del ciclo celular y es esencial para la replicación (Elmer y col 1988; Fontes y col 1992, 1994; Gutiérrez 1999).

El gen C2 o *TrAP* codifica para un activador de transcripción de los ORFS de la hebra vírica, se encuentra involucrada en la regulación de los genes virales que se expresan en etapas tardías en la infección (CP y BV1) (Sauders y Stanley ,1995; Sunter y Bisaro, 1991; Sunter y col 1994; Van Wezel y col 2001, 2002, 2003), el gen C3 o *Ren*, es una proteína potenciadora de la replicación (Elmer y col ,1988; Hanley Bowdoin y col ,2000; Sung y Coutts ,1995; Sunter y col ,1990).

En el TYLCV se ha identificado el gen C4 que codifica una proteína de movimiento específica para su hospedante y que a su vez está involucrada en la severidad de síntomas de la enfermedad (Gronenborn 1996).

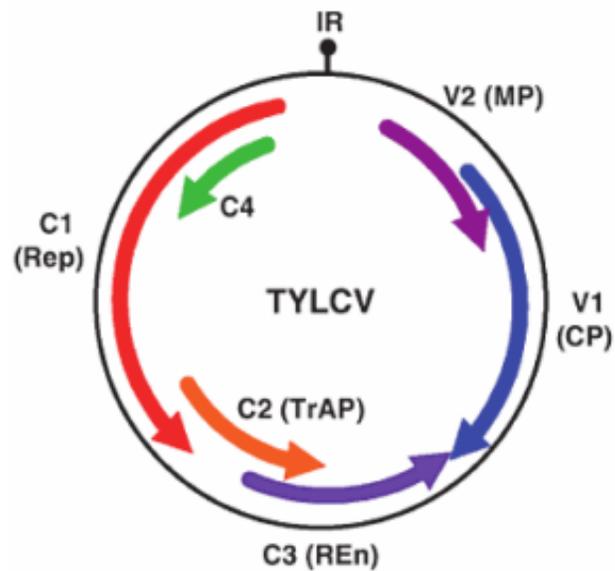


Figura 7. Esquema del genoma del TYLCV mostrando los sentidos de los 6 marcos de lectura abiertos (ORFs). IR= región intergénica, C1 o Rep= proteína de la replicación, C2 o TrAP= proteína de la transcripción, C3 o Ren= amplificación de la replicación viral, C4= proteína de movimiento, V2 o Pre-CP= esencial para el movimiento sistémico y célula a célula, y la V1 o CP= proteína de la cápside (Fauquet y Stanley 2005).

1 Síntomas causados por TYLCV

Los síntomas que presentan las plantas infectadas con TYLCV van desde enanismos, clorosis, aborto floral, clorosis intervenal, acucharamiento de las hojas hasta la maduración prematura de fruto (Figura 8) (Nakhla y col 1999; Polston y col 1999). El efecto negativo sobre la fruta depende de la edad de la planta al momento de la infección y las producciones más bajas de rendimiento ocurren cuando las plantas están infectadas en etapas de crecimiento jóvenes (1 a 5 hojas verdaderas). Las plantas infectadas en etapas posteriores (6 o más hojas verdaderas) no producen frutos; sin embargo, la fruta que se establece en el momento de la infección puede madurar normalmente y ser cosechada (Brown y Czosnek 2000).

La sintomatología está influenciada por las condiciones ambientales, precocidad e intensidad de la infección, variedad de tomate y especie del virus presente. Los brotes nuevos se desarrollan de forma anormal, con entrenudos cortos, una importante reducción de la lámina foliar y aspecto redondeado de la misma. También se puede observar una gran proliferación de tallos axilares lo cual, unido al tamaño reducido de los folíolos, confiere al conjunto un aspecto arbustivo. Las pérdidas de producción pueden ser importantes (Monci y col 2000).

La amplia distribución mundial del cultivo de tomate, así como la fácil adaptación y la rápida reproducción de *Bemisia tabaci*, ha ocasionado pérdidas devastadoras en esta hortaliza (Morales y Anderson 2001). En Estados Unidos, la estimación de las pérdidas causadas por geminivirus en tomate han alcanzado alrededor del 20% de la producción, pero en República Dominicana, Cuba, México, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Venezuela y Brasil, los daños son mayores, oscilando entre 30 y 100% de pérdidas en el rendimiento, además de los costos de control de la mosca blanca (Czosnek 2007).



Figura 8. a) TYLCV en planta de tomate, **b)** TYLCV en planta de chile : clorosis, acucharamiento de las hojas.

La distribución global de geminivirus está directamente relacionada con el vector polífago, *Bemisia tabaci*, se estima que esta especie de mosca blanca es capaz de tomar alrededor de 500 plantas como hospedero alrededor del mundo (Morales y Anderson, 2001) y se ha encontrado con una invasividad de hasta 200 km de radio (Deying y col 2006).

2 Virus huasteco de la vena amarilla del chile (PHYVV)

A finales de los 80's al sur de Tamaulipas, norte de Veracruz y este de San Luis Potosí, región conocida como la Huasteca, se detectó un begomovirus infectando chile serrano, tomate y frijol (Leal y Quintero 1989), y fue llamado *Virus Huasteco del Chile* (PHV) (Garzón-Tiznado 1993). Más tarde se renombró como *Virus Huasteco de la vena Amarilla del Chile* (PHYVV) (Garzón-Tiznado y col 1993; Torres-Pacheco y col 1993). El PHYVV es un miembro del género *Begomovirus* en la familia *Geminiviridae*, posee un genoma bipartito de aproximadamente 5.2 kb, codificando seis o siete proteínas (Brown 2003b). Se sabe que puede presentarse aun cuando las poblaciones locales de mosquita blanca son bajas; el virus posee un rango reducido de hospederos y no hay evidencia de que pueda transmitirse por semilla (Brown 2003a).

Los síntomas son los efectos visibles de la infección viral que ocasionan cambios fenotípicos en la planta. Hoy en día, la observación de síntomas resulta no ser el mejor criterio de identificación, debido a la influencia de múltiples factores externos (clima, nutrición, genotipo, manejo, etc.) (Blancard 1996), además de que recientemente se han encontrado infecciones mixtas en condiciones naturales, donde varios geminivirus (PHYVV, PepGMV) al parecer están involucrados en la expresión de síntomas (Méndez-Lozano y col 2003). Aunque al parecer no es muy común, pero la producción de frutos puede ser severamente afectada durante infecciones tempranas, debido al aborto floral y metabolismo deficiente de la planta, aunque los frutos ya formados cuando la infección ocurre se desarrollan de una manera aparentemente normal (Jones y

col 1991; Agrios 1997). Cuando las infecciones en plantas son producidas por PHYVV, se forma un reticulado muy fino y amarillamiento que se extiende a toda la hoja, junto con severas malformaciones, expresando los síntomas primero en la base de las hojas jóvenes (Figura 9). Este begomovirus se ha reportado con alta eficiencia de transmisión en Chile (Figura 9b) y tabaco, pero con una baja eficiencia en tomate (Figura 9a) (Garzón-Tiznado y col 1993; Torres-Pacheco y col 1993). Se han encontrado evidencias en infecciones mixtas con PHYVV y PepGMV, en donde el componente B de PHYVV es capaz de suplir la función de movimiento de PepGMV, pero no viceversa (Méndez-Lozano y col 2003).

3 Replicación del ADN viral

La acumulación de partículas virales de geminivirus en el núcleo de las células vegetales sugiere que la replicación del ADN viral se lleva a cabo en ese organelo en donde la maquinaria de replicación del ADN del hospedante convierte el ADN de cadena sencilla a ADN de cadena doble o forma replicativa (ADN-FR). La forma replicativa del ADN entonces funciona ya sea como molde para la transcripción de genes virales o para la amplificación del genoma por replicación por círculo rodante (RCR) (Saunders y col 1991; Stenger y col 1991). La transcripción del genoma viral es bidireccional, iniciando ésta indistintamente en cualquier lado de la región intergénica. La existencia de una región común fue primero identificada en los geminivirus bipartitas y se demostró que AC1 es el único gen esencial en la replicación tanto en el componente A, como en el componente B en su posición trans (Elmer y col 1988). AC1 codifica la proteína (Rep 40.2 kDa) que interactúa específicamente en la iniciación de la replicación del ADN viral (Etessani y col 1991). Por otra parte, estudios bioquímicos mostraron que la proteína Rep es una nucleasa sitio-específica que corta el ADN al inicio de la replicación de la cadena del virión en la secuencia nonanucleotídica conservada (Laufs y col 1995; Orozco y col 1996).



Figura 9. a) PHYVV en planta de tomate, b) PHYVV en planta de chile. Reticulado muy fino y amarillamiento que se extiende a toda la hoja y deformación en las mismas.

Por su parte Lazarowitz (1992), sugiere el potencial de la estructura tipo “horquilla” como esencial para la replicación del ADN viral, proceso mediante el cual se forma un círculo rodante de ADN que produce una banda multimérica complementaria (sentido negativo) y que sirve de molde para la síntesis de bandas multiméricas originales (sentido positivo), las cuales se fragmentan después para formar bandas positivas de longitud unitaria (Bisaro 1996; Orozco y Hanley-Bowdoin 1996). Por otro lado, Rep, la cual también es una ATPasa, no presenta alguna homología detectable con las ADN polimerasas conocidas, aunque si cierta identidad con las ADN helicasas, lo que significa que la principal responsable de la síntesis de ADN del virus es la maquinaria de replicación de la planta huésped (Hanley-Bowdoin y col 1999).

4 Transmisión del TYLCV

El insecto transmite el virus probablemente mediante la inoculación de los viriones directamente en los tubos cribosos (Jiang y col 2000). Esta transmisión es de tipo circulativa, de manera que el virus circula por el insecto hasta llegar a las glándulas salivares a partir de las cuales se inocula en las plantas durante los procesos de salivación. La adquisición del virus por mosca blanca se lleva a cabo mientras ésta se alimenta del floema de la planta infectada por TYLCV, el virus es absorbido por las células del intestino y es transportado a través del citoplasma, para liberarse en la hemolinfa (sangre del insecto) y llegar a las glándulas salivares (Benforf 1994), este proceso también conocido como transmisión persistente circulativa, característica principal para que *B tabaci* transmita el TYLCV: se transmite de forma transovárica por hembras de la primera generación de la progenie de *Bemisia tabaci* (Bosco y col 2004). La persistencia del virus puede permanecer por semanas o durante todo el ciclo de vida del insecto vector, la eficiencia disminuye con el tiempo, pero la infectividad no se pierde con la muda. Por lo que, el virus permanece en las células del vector acumulándose sin replicarse en el mismo (Garret y col 1996).

El insecto tiene un estilete para alimentarse, el cual cuenta con dos canales internamente, el canal alimenticio y el canal salival, el cual se compone principalmente de enzimas que le permiten degradar el alimento (Georich y Dolja 2006; Cilia y col 2012; Yun-Lin 2012).

El tiempo de latencia desde el inicio de la adquisición es de 17- 20 horas y una mosca adulta es infectiva durante 7-20 días (Mehta y col 1994). Las hembras de *B. tabaci* transmiten estos virus más eficientemente que los machos (Cohen y Nitzany 1966; Caciagli y col 1995), y tanto adultos como larvas pueden adquirir el virus, aunque las larvas al ser sésiles no intervienen en la dispersión del virus. Estudios realizados con la especie TYLCV parecen indicar que el virus puede pasar de un insecto a otro por transmisión sexual (Ghanim y Czosnek 2000), así como a su descendencia en al menos 2 generaciones (Ghanim y col 1998). También se ha visto que el TYLCV puede tener un efecto negativo sobre su vector, de forma que las moscas que han adquirido el virus muestran una tasa de fecundidad más baja y una menor longevidad (Rubinstein y Czosnek 1997).

Aunque no se han realizado muchos estudios sobre los factores que influyen en el comportamiento de *B. tabaci* en relación al movimiento y selección del huésped, estudios generales indican que algunas especies de insectos necesitan de la luz ultravioleta (UV) para orientarse durante el vuelo y que utilizan los patrones de reflectancia de la luz UV para el reconocimiento de la planta huésped (Goldsmith 1993). *Bemisia tabaci* estaría dentro de este grupo de insectos, puesto que esta especie se ve atraída por la luz UV (Antignus y col 1996). La explicación a este fenómeno podría encontrarse en el hecho de la existencia en este insecto de tres fotoreceptores, uno de los cuales trabaja en la longitud de onda de luz UV siendo necesaria la información de los tres fotoreceptores para un correcto movimiento y orientación del insecto (Mound 1962).

5 Estrategias de control

En los tiempos modernos, los esfuerzos en fitoprotección se guían por el paradigma del manejo integrado de plagas (MIP), el cual se sustenta en tres principios: convivencia, prevención y sostenibilidad (Hilje 2001). Estos se tratan de aplicar en las diferentes tácticas de manejo, como (además del combate químico selectivo) el combate fitogenético, las prácticas agrícolas y el control biológico (Hilje 2001).

a Control cultural

En el control cultural se crea consciencia entre los productores sobre la importancia de eliminar malezas hospederas tanto dentro como fuera del cultivo, limpieza de bordos, rotación de cultivos que no sean hospedantes, fertilización adecuada del cultivo, riesgos ordenados y adecuados, fechas de siembra y, sobre todo, la eliminación de socas o residuos de cosecha (INFOAGRO 2014).

b Manejo del vector

Las técnicas de muestreo para esta especie de mosca blanca se pueden dividir en dos grupos: aquellas destinadas al seguimiento de estados inmaduros, y las que tienen como objetivo los adultos (INFOAGRO 2014).

Para el caso de los adultos, las técnicas de muestreo mediante trampas cromáticas adhesivas han sido ampliamente utilizadas, con buenos resultados. Para el muestreo directo en planta, de estados inmaduros, han sido desarrollados métodos tanto en cultivos en invernadero como al aire libre, con estima de la población relativa o para ausencia/presencia (muestreo binomial) (INFOAGRO 2014). En los invernaderos, una serie de prácticas culturales pueden contribuir a atenuar la incidencia de *B. tabaci*: Antes de plantar se deben eliminar las malas hierbas portadoras y los restos de cosechas anteriores

en el interior y alrededores del invernadero. Se debe procurar el empleo de plantas sanas que no vengán contaminadas del semillero (INFOAGRO 2014).

Colocación de doble malla en las bandas y cubreras de los invernaderos y colocación de doble puerta o malla en la entrada de los mismos. Esto permite paliar de forma eficaz los efectos de la plaga y sobre todo del virus que transmite (TYLCV). Mallas de 20 x 10 hilos/cm impiden el paso de los individuos más pequeños de *B. tabaci*, siendo muy restrictivas las mallas de 15 x 15 hilos/cm y 12 x 12 hilos/cm., con resultados satisfactorios en condiciones de campo (INFOAGRO 2014).

En el caso de tener que prevenir la virosis, es preciso aplicar otros medios de control complementarios (químicos o biológicos), pues, las condiciones que crean las mallas en los invernaderos, hacen que las poblaciones penetradas se multipliquen mejor y puedan extender la enfermedad en el interior del invernadero. Esta medida tiene mayor interés aún en las instalaciones destinadas a la producción de plantas, para evitar la infección precoz y la dispersión de la enfermedad en el material vegetal de plantación. Se aconseja arrancar y eliminar inmediatamente las plantas afectadas por virus durante el cultivo y la eliminación de malas hierbas, posibles reservorios del vector y/o virus. El empleo de trampas cromáticas amarillas (placas pegajosas) está indicado para la detección de las primeras infestaciones por la plaga, el seguimiento de las evoluciones de las poblaciones y para facilitar la toma de decisiones a la hora de realizar las intervenciones (INFOAGRO 2014).

En los últimos 20 años han sido abundantes los trabajos encaminados a buscar enemigos naturales y métodos alternativos para el control químico de *B. tabaci*, sobre todo para su aplicación en cultivos protegidos. Esto ha cobrado mayor importancia con la aparición y expansión de esta plaga (INFOAGRO 2014).

c Control biológico

La aplicación del control biológico de moscas blancas en cultivos hortícolas y ornamentales está fuertemente influida por el clima, los ciclos de cultivo y las especies vegetales cultivadas. Hay una gran diversidad de parasitoides, depredadores y hongos entomopatógenos que son capaces de reproducirse y/o alimentarse sobre las diferentes especies de moscas blancas. En el caso de la Cuenca Mediterránea la fauna auxiliar asociada a los cultivos hortícolas, tanto en invernadero como al aire libre, y a los cítricos es muy rica y abundante, e hiberna al aire libre junto con el hospedador o la presa. Estos enemigos naturales pueden colonizar los cultivos conjuntamente con la plaga, lo que permite que el entorno suministre un aporte continuo de fauna útil a los cultivos. De hecho, la mayor parte de los enemigos naturales de moscas blancas que actualmente se están comercializando e inoculando en los invernaderos se han identificado en la Cuenca Mediterránea (Castañé y col 2008).

De entre los depredadores, cabe destacar la actividad de algunas especies de chinches de la familia *Miridae* que con cierta frecuencia se asocian al cultivo, tanto al aire libre como en invernadero. *Macrolophus caliginosus*, *Dicyphus tamaninii*, *D. errans*, *Cyrtopeltis tenuis* son consumidores activos de larvas de mosca blanca. De ellas *M. caliginosus* ofrece las mejores condiciones para su empleo en el control de la plaga en cultivos protegidos. Las sueltas en el cultivo deben realizarse al principio de la infestación cuando las poblaciones de mosca son bajas. Estas especies, junto a *Macrolophus nubilus* pueden ocasionar daños a la planta, cuando las poblaciones son elevadas y los niveles de presa bajos, sin que tengan repercusiones de consideración (INFOAGRO 2014).

Distintas especies de *Anthocoridae* (*Orius laevigatus*, *O. majusculus*, *O. niger*, *O. sauteri*, etc.) se nutren, ocasionalmente, de larvas de mosca blanca, aunque su incidencia en la regulación de las poblaciones parece escasa. En las plantas que actúan como reservorios naturales, el coleóptero *Delphastus*

pusillus (catalinae), el díptero *Achetoxenus formosus*, el neuróptero *Chrysoperla carnea* pueden aparecer, en determinadas épocas del año, en cantidades importantes y limitar el crecimiento de la plaga (INFOAGRO 2014). Cuando la humedad relativa es elevada, algunas larvas son afectadas por hongos entomopatógenos. *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces farinosus*, *P. fumosorosus* o *Aschersonia aleyridis* han sido aislados de momias de larvas de mosca blanca. Del primero se comercializa un preparado, indicado para usar en cultivos protegidos, al requerir de un grado higrométrico elevado para infectar las larvas (INFOAGRO 2014).

Varias especies de Himenópteros *Aphelinidae* parasitan a *B. tabaci*. Quizás *Eretmocerus mundus* es el parasitoide más ampliamente extendido en las áreas mediterráneas, siendo muy abundante en el otoño. Las temperaturas y las condiciones ecológicas pueden condicionar la actuación de estos auxiliares, que ejercen buen control en algunos hospedantes alternativos (INFOAGRO 2014). También destacan varias especies de *Encarsia* (*E. formosa*, *E. lutea*, *E. cibcensis*, *E. deserti*, *E. reticulata*, *E. nigricephala*, *E. transvena*, *E. tabacifora*, etc.) que parasitan a esta mosca blanca, aunque su eficacia es menor (INFOAGRO 2014). Las especies más importantes para *Bemisia tabaci* son: Ácaros: *Amblyseius (Typhlodromips) swirskii*, Coccinélidos: *Clistotethus arcualus*, *Delphastus catalinae*, *Cryptolaemus monttrouzieri*, *Coccinella undecimpunctata* L. Dípteros: *Coenosia attenuata*, *Achetoxenus formosus* Loew. Antocóridos: *Orius albidipennis*, *O. laevigatus*, *O. majusculus*, Míridos: *Macrolophus caliginosus*, *Nesidiocoris tenuis*, *Dicyphus tamaninii*, *D. errans*. Neurópteros: *Chrysoperla carnea*, *Conwentzia psociformis* (Cuthbertson y col 2007).

Actualmente, en el Sur de España el control biológico de la mosca blanca en el cultivo de pimiento se basa en la inoculación del parasitoide *E. mundus* y del fitoseido *A. swirski*, extendiéndose su aplicación a unas 6.000 hectáreas (ha). En tomate se emplea el control biológico en unas 1.400 ha de

invernaderos y los enemigos naturales más ampliamente utilizados son *E. mundus* y el depredador *N. tenuis* y, en menor medida, *M. caliginosus*. La instalación de ambos depredadores en el cultivo, sobre todo cuando las temperaturas van en descenso, es muy lenta y en algunos casos se inoculan conjuntamente con *E. mundus* (Van der Blom 2007, Nannini y col 2006). *Nesidiocoris tenuis* es más abundante que *M. caliginosus* en estas zonas más cálidas, sin embargo, debe tenerse en cuenta que este depredador es también fitófago y puede producir daños al cultivo sobre todo cuando no hay presas disponibles y las poblaciones son elevadas (Arnó y col 2008; Calvo y col 2008; Sánchez 2008).

d Control químico

El control químico, utilizando insecticidas específicos como los reguladores del crecimiento (IGRs), se utiliza a menudo contra las moscas blancas cuando las poblaciones iniciales de plaga son elevadas o cuando los enemigos naturales no se instalan bien en el cultivo (Gabarra y col 2008). Pero el control químico conlleva la persistencia de residuos que afectan el medio ambiente, permanecen en los productos y son perniciosos para los que aplican los insecticidas. Además, por la resistencia descrita para *B. tabaci* a los insecticidas, no es recomendable la aplicación continuada para tratar esta plaga (Palumbo 2001).

Algunos de los insecticidas utilizados son: el piriproxifen, el cual es un derivado de la piridina con actividad insecticida por contacto e ingestión que se comporta como una hormonal juvenil, que interfiere en la transformación de la pupa al estado de adulto; consecuentemente actúa durante un corto período en el estado larvario. Es un regulador de crecimiento de insectos que afecta a la fisiología de la morfogénesis, reproducción y embriogénesis de los insectos (Mulder y Gijswijt 1973).

El efecto morfogenético de piriproxifen se observa principalmente durante la transformación de larva a pupa. Por lo tanto, la muerte se produce en la fase de pupa y los mosquitos adultos no emergen. Presenta un alto nivel de actividad frente a la emergencia de adultos del mosquito en la inhibición de las larvas a muy bajas dosis (Mulder y Gijswijt 1973). Resulta efectivo en el control de cochinillas, moscas blancas, piojo de San José y otros insectos chupadores (WHOPES 2001; 2008). La toxicidad del piriproxifen fue evaluada por la FAO/WHO y por la JMPR (Joint Meeting on Pesticide Residues) en 1999 y se concluyó que la toxicidad oral aguda es baja, con valores de DL₅₀ (Dosis Letal Media) de > 5000 mg/kg de peso en ratones, ratas y perros. La toxicidad dérmica también es baja con DL₅₀ > 2000 mg/kg de peso en ratones y ratas. La toxicidad por inhalación registra valores de CL₅₀ (Concentración Letal Media) > 1.3 mg/ litro de aire en ratones y ratas (WHOPES 2001; 2008).

El piriproxifen no representa un riesgo carcinógeno para los humanos, no es genotóxico en una gama adecuada de las pruebas de mutagenicidad y citogenicidad in vitro e in vivo y no es teratogénico (WHOPES 2001; 2008). Este insecticida tiene bajo impacto ambiental y es adecuado para el control de larvas de mosquitos, pero como cualquier IGR puede tener algún efecto en otros artrópodos o crustáceos. Por lo general, es bajo y las poblaciones se recuperan rápidamente, pero debe evitarse su aplicación en fuentes de aguas naturales (WHOPES 2008). La WHOPES concluyó que el “piriproxifen no causa perjuicio a la gran mayoría de invertebrados acuáticos y peces cuando se aplica a tasas de <50 ppb (partes por billon) en los programas de control de mosquitos” y ha sido aprobado por el Comité Mixto FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas y Organización Mundial de la Salud) sobre Residuos de Plaguicidas, para el control de larvas de mosquitos. (WHOPES 2001; 2008). El piriproxifen se degrada rápidamente en el suelo en condiciones aeróbicas, con una vida media de 36 días. En criaderos con sedimentos el piriproxifen tiene una vida media de 16 a 21 días (WHOPES 2008).

Los neonicotinoides, anteriormente llamados nitroguanidinas, neonicotinilos, cloronicotinas, nitrometilenos y recientemente cloronicotinilos, son una familia de insecticidas de acción sistémica que ingresan a la planta y que al ser consumidas por el insecto afectan el sistema nervioso central de los insectos ocasionándoles la muerte. Son una nueva clase de insecticidas análogos de la nicotina. A diferencia de la nicotina (DL_{50} en ratas 55 mg/kg) estos insecticidas son mucho menos tóxicos para mamíferos con una DL_{50} en ratas mayor a 5000 mg/kg (Palumbo y col 2001; Ware y Whitacre 2004; Yu 2008). El imidacloprid también llamado confidor que hace parte de este grupo, es un insecticida sistémico, pero con actividad estomacal y de contacto, usado para insectos chupadores que incluye áfidos, saltahojas, trips, moscas blancas, insectos del suelo y algunas especies de insectos masticadores (Yu 2008). El imidacloprid actúa como agonístico interfiriendo con el receptor nicotínico de la acetilcolina (RnAC), este insecticida tiene una gran afinidad con los receptores nicotinérgicos de la acetilcolina en los receptores postsinápticos de la región nerviosa central interfiriendo en la transmisión química de señales (Liñan 1997). Se recomienda aplicar de 0.18 a 0.35 L/ha (litros/ hectárea) (Vademécum 2012).

Presenta buena movilidad en el xilema y por lo tanto es adecuado para el tratamiento de semillas y aplicación al suelo (Ishaaya y Degheele 1997; Ware y Whitacre 2004). Bajo dosis subletales se afecta el comportamiento alimenticio de los áfidos, resultando en la supresión de la excreción de miel de rocío, desorientación, hambre y posteriormente la muerte (Nauen 1995). Como máximo se deben hacer tres aplicaciones del producto formulado imidacloprid: a) impregnar la semilla con una formulación sólida (70 g /kg); b) aplicar 2 ml/ L agua a las plántulas en invernadero; c) realizar la última aplicación (1.0 L/ ha) al cuello de la planta, 3-5 días después del trasplante (Gutiérrez y col 2007).

El efecto residual del imidacloprid cuando es aplicado para el manejo de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: *Aleyrodidae*), dura entre 1 y 10 semanas,

dependiendo de la formulación, frecuencia, profundidad de percolación, tipo de suelo, método de aplicación y cultivo (Palumbo y col 2001). En pruebas de campo se ha encontrado que el imidacloprid no es tóxico para microorganismos del suelo, algas y peces, entre ligera a moderadamente tóxico a aves. No es tóxico para diplópodos, arañas y ácaros depredadores, pero insectos benéficos pueden ser afectados como el caso de las abejas; este daño puede ser evitado mediante aplicación al suelo, aprovechando su acción sistémica y su fácil movimiento a través del xilema (Ishaaya y Degheele 1997). Confidor es el nombre comercial del imidacloprid perteneciente a la compañía Bayer Cropscience.

D GENERALIDADES DEL TOMATE

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas. El origen del género *Lycopersicum* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de la Colombia (Perú, Bolivia y Ecuador) al norte de Chile, pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecería como mala hierba entre los huertos. Durante el siglo XVI se consumían en México tomates de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos (Jano 2006). Con la llegada de los españoles se expandió al viejo continente y de ahí a todo el mundo; con su comercialización y difusión lograda, en la actualidad forma parte de las dietas y los platos tradicionales de gran cantidad de culturas en todo el mundo (USDA 2009). Se considera que, a nivel internacional, las hortalizas junto con las frutas ocupan en nuestros días el segundo lugar de los productos agropecuarios, apenas aventajadas por los cereales (SAGARPA 2005). La producción de tomate rojo para el año 2014 en Sinaloa fue de 867,832.04 toneladas, obteniendo el primer lugar a nivel nacional (SIAP-SAGARPA 2016).

El manejo racional de los factores climáticos de forma conjunta es fundamental para el funcionamiento adecuado del cultivo de tomate. La

temperatura óptima de desarrollo oscila entre 20 y 30°C durante el día y entre 1 y 17°C durante la noche; temperaturas superiores a los 30-35°C afectan la fructificación, por mal desarrollo de óvulos de la planta en general y del sistema radicular en particular, temperaturas inferiores a 12-15°C también originan problemas en el desarrollo de la planta.

La maduración del fruto está muy influida por la temperatura en lo referente tanto a la precocidad como a la coloración, de forma que valores cercanos a los 10°C así como superiores a los 30°C originan tonalidades amarillentas. La humedad relativa óptima oscila entre un 60% y un 80%, valores más elevados favorecen el desarrollo de enfermedades aéreas y el agrietamiento del fruto y dificultan la fecundación, debido a que el polen se compacta, abortando partes de las flores, también una humedad relativa baja, dificulta la fijación del polen al estigma de la flor. Valores reducidos de luminosidad pueden incidir de forma negativa sobre los procesos de floración, fecundación, así como el desarrollo vegetativo de la planta (Nuez 1995).

Sin embargo, el cultivo del tomate se ve afectado por factores bióticos, como es el caso de algunas plagas y enfermedades, de las cuales, la mosca blanca es una de las limitantes más importante para la producción, ya que las condiciones climáticas y el patrón de cultivos favorecen el aumento en la densidad poblacional afectando al cultivo de manera directa al succionar la savia, e indirectamente transmitiendo enfermedades virosas y/o manchando con sustancias azucaradas sobre las cuales se desarrollan hongos como la fumagina (Guzmán y col 1994; Ortega 1992). Las principales plagas que afectan el tomate son polífagas, por lo que no son exclusivas de este cultivo. Las mosca blanca *Bemisia tabaci* Gennadius y *Trialeurodes vaporariorum* se encuentran entre las principales plagas, especialmente en invernadero (Gabarra y Besri 1999; Gabarra y col 2008).

IV JUSTIFICACIÓN

Bemisia tabaci Genn. ha causado daños indirectos como vector de begomovirus en cultivos como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), en donde se registraron daños del 30% durante el ciclo agrícola 2005-2006 debido al efecto de estos patógenos. El control de este vector básicamente se realiza con el empleo de insecticidas sintéticos dentro de los cuales existen algunos del grupo toxicológico de los neonicotinoides y piriproxifen, hacia los cuales se ha descrito la resistencia por un nuevo biotipo de mosquita blanca denominado "Q". A nivel internacional se tienen registrados más de 25 biotipos de este insecto. Sin embargo, en Sinaloa no se cuenta con información acerca de los biotipos que coexisten en la región, conocimiento que será de gran importancia para el rediseño en el empleo de insecticidas para el manejo de este vector. Por otro lado, no se ha encontrado información científica sobre el efecto de la temperatura en el proceso de adquisición del TYLCV y del PHYVV por *Bemisia tabaci* a partir de plantas infectadas de tomate, lo cual apoyará a los agricultores en la estimación de riesgos por el efecto de virus de acuerdo a las temperaturas.

V OBJETIVOS

A OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la temperatura sobre la presencia del TYLCV y PHYVV en biotipos de *B. tabaci* Genn. a partir de plantas de tomate infectadas.

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar la presencia de biotipos B y Q de *Bemisia tabaci*, y correlacionar su presencia con temperaturas en poblaciones muestreadas en plantas de tomate cultivadas en campo abierto en la agrícola San Ignacio, Sinaloa, México durante el ciclo agrícola 2015-2016.
2. Registrar la dinámica poblacional de mosca blanca en plantas de tomate y su relación con la incidencia de TYLCV y PHYVV.
3. Correlacionar la presencia de TYLCV y PHYVV en biotipos B y Q de *B. tabaci* con las temperaturas (GDp) presentes durante el ciclo agrícola 2015-2016.

VI MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

Se colectaron 109 individuos de *Bemisia tabaci* Genn. en plantas de tomate, durante el período de noviembre de 2015 a marzo de 2016, en el Valle de Culiacán, Sinaloa, en el sitio San Ignacio, Sinaloa (N 24°39'13.3"; W 107°24'54.6").

La colecta de *B. tabaci* se llevó a cabo periódicamente (Cuadro 2) con ayuda de un succionador entomopatológico. Se tomaron entre 10 y 15 insectos por muestreo para llevar a cabo los análisis. Los insectos fueron colocados en tubos eppendorf de 1.5 mL y se les añadió etanol absoluto para después ser almacenados a -20°C para su conservación, hasta realizar los análisis correspondientes; además se tomaron muestras de tejido vegetativo de plantas con síntomas de begomovirus para confirmar la presencia de éstos patógenos, estas muestras se almacenaron bajo refrigeración a 4°C (Park y col 2012), una de estas muestras que se utilizó en la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y amplificó para TYLCV y otra que amplificó para PHYVV se utilizó como control positivo para los respectivos bioensayos con insectos, mientras que una muestra que no manifestaba síntomas y resultó negativa para los virus fue utilizada como control negativo.

Las temperaturas (grados día promedio, GDp) fueron consultadas en la página del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (<http://culiacan.ciad.edu.mx/mapa/>), donde se muestran las temperaturas diarias, las cuales se calcularon según el umbral establecido para *B. tabaci* (10°C), con el uso de la fórmula: $(\text{Temperatura máxima} + \text{temperatura mínima})/2 - 10$.

Cuadro 2. Fechas de muestreo de *Bemisia tabaci* Genn. y tejido de plantas de tomate.

Fecha
07/11/2015
21/11/2015
02/12/2015
18/12/2015
29/12/2015
07/01/2016
19/01/2016
15/02/2016
27/02/2016
22/03/2016

B MÉTODOS

1 Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN de las muestras de mosca blanca y tejido vegetativo, colectadas como se indicó en la sección de materiales. Además se llevó a cabo el conteo de moscas que contenía cada planta y se observó cuántas de estas plantas presentaban síntomas de begomovirus.

a Extracción de ADN de tejido de planta de tomate

La extracción del ADN total de las plantas sanas e infectadas con begomovirus (TYLCV y PHYVV), se realizó de acuerdo a la metodología de Doyle y Doyle 1990, con algunas modificaciones. Se tomó una hoja por planta, se colocó en un mortero, y se agregaron 800 μ L de buffer de extracción frío (Tris-HCl 100 mM pH 8.0, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M, CTAB 2%, β -mercaptoetanol 0.2% v/v), y se maceró con un pistilo. Posteriormente, el macerado se incubó por 30 min a 65°C en baño María. Después se añadieron 100 μ L de acetato de amonio 10M, se dio agitación en vortex, y se incubó en hielo por 10 min, se agregó 1 volumen de fenol cloroformo isoamílico (25:24:1) frío y se agitó hasta homogeneizar para posteriormente centrifugar a 12000 g /10 min a 4°C.

Los ácidos nucleicos se recuperaron en un tubo de 1.5 μ L y se agregaron 0.6 volumen de isopropanol (se mezcló suavemente) y se precipitó durante 1 h a -20°C, nuevamente se centrifugó a 12000 g/10 min a 4°C y se decantó el isopropanol. Se lavó el ADN agregando 500 μ L de etanol 70% frío y nuevamente se centrifugó a 12000 g/ 5 min (2 veces), posteriormente se secó la pastilla a temperatura ambiente durante algunos minutos con la finalidad de eliminar el sobrenadante, y se resuspendió con 20-30 μ L de agua inyectable. Se prosiguió con el análisis de las muestras obtenidas en un gel de agarosa 1% para verificar que la extracción del ADN se realizó adecuadamente.

b Extracción de ADN de *Bemisia tabaci* Genn.

La extracción de mosca blanca se realizó de acuerdo a la metodología de Doyle y Doyle 1990, con algunas modificaciones. Se llevó a cabo de manera individual (un insecto), el cual fue puesto en un mortero, se agregaron 120 μL de amortiguador de extracción frío [CTAB 2% (p/v): Tris-HCl 100 mM pH 8.0, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M, β -mercaptoetanol 0.2% (v/v)] y se maceró con un pistilo, posteriormente se transfirió el macerado a un tubo de 1.5 mL, se incubó durante 30 minutos a una temperatura de 65 °C a baño María. Después se añadieron 16 μL de acetato de amonio 10 M y se incubó en hielo por 10 min, se agregó 1 volumen de fenol cloroformo isoamílico (25:24:1) frío y luego se agitó hasta homogeneizar. Rápidamente se pasó a centrifugar a 12000 g /10 min a 4°C.

Los ácidos nucleicos de la fase acuosa se recuperaron en un tubo de 1.5 μL y se agregaron 0.6 volumen de isopropanol (se mezcló suavemente) y se puso a precipitar durante 1 h a -20°C, se centrifugó a 12000 g /10 min a 4°C y se decantó el isopropanol. Se lavó el ADN agregando 100 μL de etanol 70% frío y se centrifugó a 12000 g / 5 min (2 veces), luego la pastilla se puso a secar a temperatura ambiente durante algunos minutos con la finalidad de eliminar el sobrenadante, y se resuspendió finalmente con 20 o 30 μL de agua inyectable. Se prosiguió con el análisis de las muestras obtenidas, en un gel de agarosa 1% para verificar que la extracción del ADN se realizó adecuadamente.

2 Amplificación por PCR

a TYLCV

La amplificación del ADN viral de TYLCV se realizó de acuerdo al método descrito por Salati y col 2002, con algunas modificaciones. La mezcla de PCR consistió de 2 μL de ADN de cada una de las muestras de extracción, 2.5 μL de amortiguador de reacción de PCR (10X), 0.5 μL de dNTPs (10 μM), 0.75 μL de

MgCl₂ (50μM), 0.25 μL *Taq* ADN polimerasa, 2.5 μL de oligonucleótidos iniciadores (5 μM) y agua inyectable, para un volumen final de 25 μL.

Las amplificaciones se realizaron en un termociclador multigen optimax (Labnet international, inc.). Los iniciadores empleados en este apartado fueron el 87 y 88 (Salati y Col 2002) (Cuadro 3), los cuales amplifican un segmento de ADN de 334 pb. Las reacciones fueron pre-desnaturalizadas a 94°C por 5 minutos, seguidos de 30 ciclos: 95°C por 60 s para desnaturalización, 47°C por 80 s para alineamiento, con una extensión de 73°C por 2 min y una extensión final de 73°C por 10 min. La separación de los fragmentos amplificados se hizo por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% (p/v) con amortiguador TAE 1X (Tris-HCL 100 mM, pH 8.0, ácido acético, EDTA 0.5 M) en una cámara electroforética horizontal (Labnet International,inc).

El marcador molecular utilizado fue el de 1 kilobase (Kb) (plus ADN, Invitrogen) (1μg/ μL). Se mezclaron 8 μL de la reacción de PCR con 3 μL de amortiguador de carga (azul de bromofenol y glicerol) y posteriormente las muestras se cargaron en los pozos del gel. La separación electroforética se realizó a voltaje constante (80 V) durante aproximadamente 1 h. El gel fue teñido con una solución Gel red (0.3 μL) y los productos amplificados fueron digitalizados para su análisis en un fotodocumentador de luz ultravioleta (MiniBis Pro, DNR Bio-Imaging System, Israel).

Cuadro 3. Nombre y secuencia de iniciadores utilizados para el análisis de biotipos B y Q de mosquita blanca y la presencia de TYLCV y PHYVV en estos insectos, en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

Iniciador	Secuencia de iniciador (5' - 3')	Observaciones	Referencia
87-F	GTTCGATAATGAGCCCAG	Detección de TYLCV	Salati y col 2002
88-R	ATGTAACAGAAACTCATG		
240-F	GGCTTATTTGTAATAAGAGAGGTGT	Detección de PHYVV	Torres-Pacheco y col 1996
241-R	GAATTAAAGGTACATGGACCACTT		
Biotype -F	CAGTCTAGGTAAGTGAAGTTTTTC	Detección del biotipo B o Q	Kang y col 2012
Biotype -R	CTTCRGGCGTTGCCAAATTTAC		

F=Forward, R=Reverse.

b PHYVV

La amplificación del ADN viral de PHYVV se realizó de acuerdo al método descrito por Torres-Pacheco y col 1996, con modificaciones. La mezcla de PCR consistió de 2 μ L de ADN de cada una de las muestras, 2.5 μ L de amortiguador de reacción de PCR (10X), 1 μ L de dNTPs (10 μ M), 2 μ L de MgCl₂ (50 μ M), 0.25 μ L *Taq* ADN polimerasa, 1.25 μ L de oligonucleótidos iniciadores (5 μ M) y agua inyectable, para un volumen final de 25 μ L.

Las amplificaciones se realizaron en un termociclador multigen optimax (Labnet international, inc.). La secuencia de cada uno de los iniciadores para PHYVV fue 240 y 241 (Torres-Pacheco y col 1996) (Cuadro 3), los cuales amplifican un segmento de ADN de 350 pb. Las reacciones fueron pre-desnaturalizadas a 94°C por 5 minutos, seguidos de 35 ciclos: 94°C por 45 s para desnaturalización, 60°C por 30 s de alineamiento, con extensión de 72°C por 1 min y una extensión final a 72°C por 10 min. La separación de los fragmentos amplificados se hizo por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% (p/v) con amortiguador TAE 1X (Tris-HCL 100 mM, pH 8.0, ácido acético, EDTA 0.5 M) en una cámara electroforética horizontal (Labnet International, inc). El marcador molecular utilizado fue el de 1 Kb (plus ADN, Invitrogen) (1 μ g/ μ L). Se mezclaron 8 μ L de la reacción de PCR con 3 μ L de amortiguador de carga (azul de bromofenol y glicerol) y posteriormente las muestras se cargaron en los pozos del gel. La separación electroforética se realizó a voltaje constante (80V) durante aproximadamente 1 h. El gel fue teñido con una solución Gel red (0.3 μ L) y los productos amplificados fueron digitalizados para análisis en un fotodocumentador de luz ultravioleta (MiniBis Pro, marca DNR Bio-Imaging System, Israel).

c Biotipos

La amplificación de los biotipos se realizó de acuerdo al método descrito por Kang y col 2012. La mezcla de PCR consistió de 2 μ L de ADN de cada una de las muestras, 2.5 μ L de amortiguador de reacción de PCR, 0.5 μ L de dNTPs, 0.75 μ L de MgCl₂, 0.25 μ L Taq ADN polimerasa, 2.0 μ L de oligonucleótidos iniciadores (1 μ L de oligo 1 y 1 μ L del oligo 2) y agua inyectable para un volumen final de 25 μ L.

Las amplificaciones se realizaron en un termociclador multigen optimax (Labnet international, inc.) con el empleo de los iniciadores F y R (Cuadro 3), los cuales amplifican segmentos de 292 pb correspondientes al biotipo B y 394 pb para el biotipo Q . Las reacciones fueron desnaturalizadas a 94 °C por 2 minutos, seguidos de 35 ciclos: 94 °C por 30 s para desnaturalización, 55 °C por 40 s de alineamiento, 68 °C por 1 min de alineamiento, con una extensión final a 68 °C por 1 min. La separación de los fragmentos amplificados se realizó por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% (p/v) con amortiguador TAE 1X (Tris-HCL 100 mM, pH 8.0, ácido acético, EDTA 0.5 M) en una cámara electroforética horizontal (Labnet International, inc). El marcador de tamaño molecular se usó a una escalera de 1Kb (plus ADN, Invitrogen) (1 μ g/ μ L).

3 Análisis electroforético de fragmentos de ADN amplificados por PCR

Se prepararon geles de agarosa al 1.5% (p/v) para cargar las muestras de ADN de PCR, con amortiguador TAE 1X (Tris-HCL 100 Mm pH 8.0, ácido acético 99.5% de pureza, EDTA 0.5 M). Se mezclaron 4 μ L de la reacción de PCR con 2 μ L de amortiguador de carga (azul de bromofenol 0.025%, Xilenocianol 0.025% y glicerol al 30%) y posteriormente se cargaron en los pozos del gel. La separación electroforética se realizó a voltaje constante (80V) durante aproximadamente 1 h en una cámara electroforética horizontal (Labnet International, inc).

El gel fue teñido con una solución Gel red (invitrogen)(10 000X) con el uso de 0.3 μ L de gel red por cada 30mL de gel agarosa, y los productos amplificados fueron digitalizados para análisis en un fotodocumentador de luz ultravioleta (MiniBis Pro, DNR Bio-Imaging System, Israel).

4 Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo para la presencia de síntomas de virus y mosca blanca en plantas de tomate, y grados día. Por otro lado, se efectuó un análisis estadístico de asociación entre plantas con síntomas de begomovirus, *B. tabaci* y grados días promedio acumulados (GDpA) haciendo uso de una regresión de Pearson, el estígrado empleado fue la Chi cuadrada (χ^2) para el estudio de datos con $\alpha= 0.05$. Por otra parte, se utilizó un análisis de asociación entre biotipos de *B. tabaci* y GDpA, biotipos de mosca blanca con incidencia del virus TYLCV y PHYVV y GDpA, llevando a cabo una regresión de Poisson. El estadístico empleado fue la Chi cuadrada (χ^2) para el estudio de datos con un $\alpha= 0.05$. Se utilizó el programa Minitab versión 17 para ambos análisis estadísticos de asociación. La tendencia obtenida con el empleo de los GDpA en los análisis de asociación fue similar a lo observado en campo, debido a ello se utilizaron esos datos. Sin embargo, cada uno de estos puntos acumulados se calculó a partir de un promedio de grados día (GDp) estimado en 15 días previos por cada muestreo, esto con la finalidad de registrar las condiciones de temperatura en base a grados día bajo las cuales se desarrollaba el insecto en el proceso de adquisición del virus a partir de la planta enferma (Cuadro 4).

Cuadro 4. Grados día promedio y acumulados por fechas de muestreo.

Fecha	GDp	GDpA
07/11/2015	15.54	15.54
21/11/2015	12.96	28.50
02/12/2015	13.51	42.01
18/12/2015	10.57	52.59
29/12/2015	8.18	60.77
07/01/2016	8.79	69.56
19/01/2016	7.23	76.78
15/02/2016	9.50	86.28
27/02/2016	11.17	97.46

VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE BEGOMOVIRUS Y *Bemisia tabaci* EN CULTIVO DE TOMATE

1 Presencia de *Bemisia tabaci* en cultivo de tomate

Se observaron individuos de *Bemisia tabaci* en plantas de tomate durante el período del 07 de Noviembre de 2015 al 27 de Febrero de 2016. El número de plantas muestreadas osciló entre 25 y 1125, mientras que la población de moscas blancas colectadas estuvo entre 31 y 226. Al inicio del muestreo la población de insectos de *B. tabaci* fue muy baja (0.09 moscas blancas por planta, mb/planta) por lo cual fue necesario incrementar el número de plantas muestreadas, en los últimos muestreos se observó lo contrario, ya que con un número menor de plantas, el total de moscas blancas fue mayor (Cuadro 5). En el primer muestreo la planta se encontraba en la etapa de tercera flor y era de un tamaño menor (60 cm), mientras que los últimos muestreos se realizaron en la etapa de cosecha y las plantas tenían un mayor tamaño (2.20 cm) (datos no mostrados).

2 Presencia de síntomas de begomovirus en cultivo de tomate

En el Cuadro 6 se presenta la dinámica de las plantas observadas con síntomas de begomovirus. Se muestrearon entre 600 a 1800 plantas, cuya presencia de síntomas varió entre 5 y 155 plantas enfermas, lo que arrojó un rango entre 0.83-17.22% de plantas con síntomas de begomovirus. Los datos de número de moscas blancas por planta descritos en el Cuadro 5, se correlacionaron con el número de plantas enfermas por begomovirus descritas en el Cuadro 6, para lo cual se realizó un análisis estadístico de asociación de Pearson para la presencia de *Bemisia tabaci* y el porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus, teniendo como variable independiente los GDpA (temperatura base 10°C).

Cuadro 5. Presencia de *Bemisia tabaci* en plantas de tomate en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México, durante el período del 07 de Noviembre de 2015 al 27 de Febrero de 2016.

Fecha	Plantas	# <i>B. tabaci</i>	Mb/planta	Estado de desarrollo
07/11/2015	1125	105	0.09	Tercera flor
21/11/2015	600	115	0.19	Sexta flor
02/12/2015	48	31	0.65	Octava Flor (Cosecha)
18/12/2015	80	70	0.88	Cosecha
29/12/2015	25	60	2.40	Cosecha
07/01/2016	40	90	2.25	Cosecha
19/01/2016	34	195	5.74	Cosecha
09/02/2016	58	226	3.90	Cosecha
27/02/2016	34	214	6.29	Cosecha

Cuadro 6. Muestreo de la incidencia de begomovirus en plantas de tomate en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México, durante el período del 07 de Noviembre de 2015 al 27 de Febrero de 2016.

Fecha	# Plantas	Plantas con begomovirus	% plantas con síntomas de begomovirus
07/11/2015	600	5	0.83
21/11/2015	900	8	0.89
02/12/2015	600	6	1.00
18/12/2015	600	13	2.17
29/12/2015	1200	44	3.67
07/01/2016	600	33	5.50
19/01/2016	1800	109	6.06
09/02/2016	1200	113	9.42
27/02/2016	900	155	17.22

3 Comportamiento de temperatura y grados día durante el ciclo agrícola 2015-2016

Entre los factores más importantes para el desarrollo de *B. tabaci* se encuentra la temperatura ambiental expresada en unidades calor (UC) ó grados día (GD). Éste es un índice de temperatura que combina el tiempo y temperatura umbral mínima y máxima aplicable en un período de 24 horas, con lo cual se puede predecir las fases de desarrollo en que se encuentra un organismo poiquiloterma.

Las temperaturas máximas cada quince días hasta la fecha de muestreo oscilaron entre 28.7°C y 35.9°C y las temperaturas mínimas en 4.7°C y 14.7°C (Cuadro 7). Esto es un punto importante a considerar ya que esa temperatura determinada en grados día, representa las condiciones fisiológicas de desarrollo del insecto durante ese tiempo, pues el rango de temperatura para su desarrollo oscila entre 10 y 41°C.

Al inicio del muestreo, en Noviembre la temperatura máxima fue de 35.9 °C y 14.7 °C como mínima, lo cual arrojó un total de 248.7 grados día durante 15 días previos al muestreo. Cuando la temperatura fue menor, por ejemplo el día 29 de Diciembre de 2015, las temperaturas oscilaron entre 28.7°C y 4.7°C con un total de solo 73.65 grados días en un mismo período de 15 días, lo que permitió un menor desarrollo del insecto (Cuadro 7).

Cuadro 7. Temperaturas máximas y mínimas, grados día (suma), grados día promedio y grados día promedio acumulados registrados quincenalmente en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México, durante el período del 07 de Noviembre de 2015 al 27 de Febrero de 2016.

Fecha	Temperatura máxima*	Temperatura mínima*	Suma grados día quincenal	Grados día promedio (GDp)	GDpA
07/11/2015	35.9	14.7	248.7	15.54	15.54
21/11/2015	35.5	10.3	194.4	12.96	28.5
02/12/2015	35.5	10.3	229.7	13.51	42.01
18/12/2015	35.5	7.3	169.15	10.57	52.59
29/12/2015	28.7	4.7	73.65	8.18	60.77
07/01/2016	31.1	7.7	140.6	8.79	69.56
19/01/2016	29.1	5.2	115.6	7.23	76.78
15/02/2016	31.9	10.3	142.54	9.5	86.28
27/02/2016	31.7	10.7	178.79	11.17	97.46

*Temperaturas obtenidas de la página de CIAD clima Culiacán (<http://culiacan.ciad.edu.mx/mapa/>).

B IDENTIFICACIÓN DE BIOTIPOS, VIRUS TYLCV Y PHYVV EN INSECTOS DE *Bemisia tabaci*

1 Análisis electroforético del ADN viral de insectos de *Bemisia tabaci* Genn. y tejido vegetativo de plantas de tomate

Se realizó una extracción de ADN viral a partir de tejido vegetativo de brotes apicales de plantas de tomate con síntomas y asintomáticas; se tomaron 2 plantas enfermas y dos sanas por cada muestreo, para un total de 20 muestras de ADN procedentes de plantas enfermas analizadas y 20 muestras de ADN procedentes de plantas sanas (Figura 10) las cuales se almacenaron a -4 °C, y se obtuvieron 80 µL del ADN de cada una de las muestras con una concentración aproximada de 80 ng/ µL.

Para el caso de la detección de virus en el insecto, se extrajo ADN (individualmente) de 109 insectos de *B. tabaci*, y se mantuvieron almacenados a -4°C para su posterior análisis (Figura 11), por otro lado, los otros insectos restantes, se mantuvieron almacenados a -4°C para el caso de que fuera necesario repetir el análisis en un futuro. Cabe mencionar que durante los primeros muestreos correspondientes al mes de Noviembre de 2015 las bajas poblaciones de mosca blanca dificultaron la colección de éstas, debido a que durante los primeros meses de cultivo las poblaciones de *B. tabaci* son menores e incrementan con el estado fenológico de la planta.

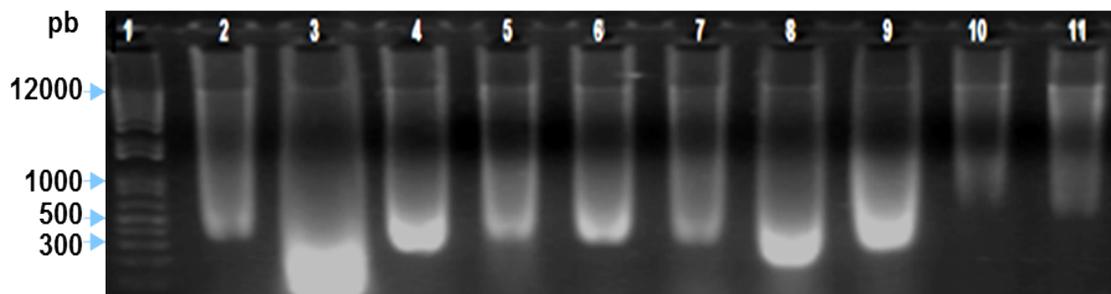


Figura 10. Extracción de ADN de tejido de plantas de tomate con síntomas de virus. Carriles: 1) Marcador molecular, 2-11) Muestras de ADN de tejido de plantas de tomate colectadas bajo condiciones de campo abierto, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

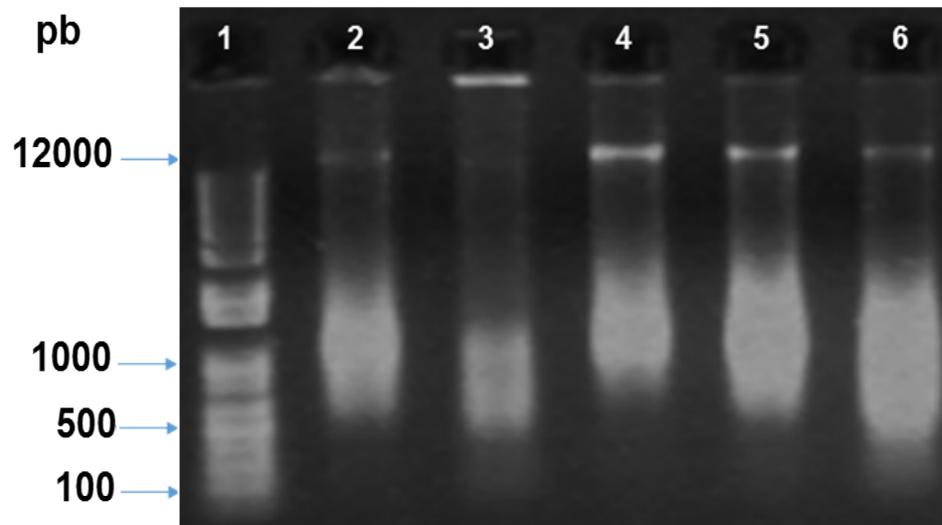


Figura 11. Extracción de ADN de *B. tabaci* colonizando plantas de tomate bajo condiciones de campo abierto. Carriles: 1) Marcador molecular de 1 Kb; 2 al 6) Muestras de ADN de *Bemisia tabaci* (insectos individuales) colectadas en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

2 Análisis de la presencia de *Bemisia tabaci* Genn.

a Detección de biotipos B y Q

Se obtuvieron amplicones predichos de 292 y 394 pb, que describen a los biotipos B y Q (Kang y col 2012), respectivamente, en geles de agarosa al 1.5%. Los carriles 3-5,7, 9-11 presentaron amplificadores de ADN predichos para el biotipo B y sólo los carriles 6 y 8 presentaron fragmentos de ADN predichos para el biotipo Q (Figura 12). Heras-Gaspar (2015) detectó previamente estos biotipos de *B. tabaci* durante el ciclo agrícola de tomate 2013-2014 en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México. Se ha descrito que el biotipo Q presenta una mayor resistencia a los insecticidas que la observada en el biotipo B (Anthony y col 1995; Rauch y Nauen 2003; Horowitz y col 2014, 2005), como es el caso de los neonicotinoides pertenecientes al grupo cuatro, los cuales son moduladores competitivos del receptor nicotínico de la acetilcolina (nAChR) y actúan en el sistema nervioso y muscular, y el piriproxifén clasificado en el grupo siete C como mimético de la hormona juvenil (modo de acción: crecimiento y desarrollo) (IRAC 2016).

La rápida dispersión de estos biotipos a nivel mundial, su fácil adaptación a los diferentes sitios geográficos, la eficiencia en retención y transmisión de virus, así como la resistencia a insecticidas y altas temperaturas, ha sido reportado por algunos investigadores, señalando el riesgo que implica su presencia y la importancia del control hacia *B. tabaci* (Horowitz y col 2014; 2005; Kontsedalov y col 2012; Dong Chu y col 2012; Brumin y col 2011; Luo y col 2010).

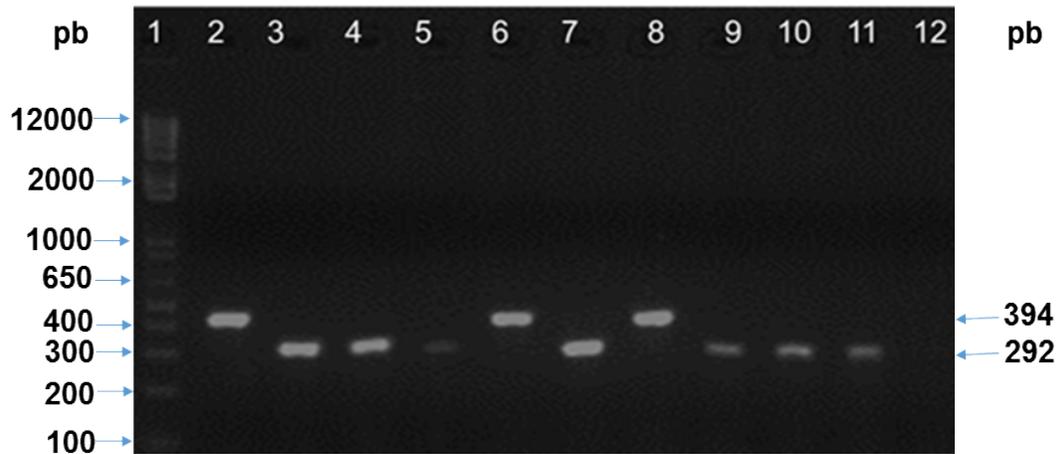


Figura 12. Detección de biotipos de *Bemisia tabaci*. Carriles: 1) Marcador molecular de 1 Kb, 2) Control positivo (amplificado anteriormente para biotipo Q), 3-11) Muestras de ADN de *B. tabaci* muestreadas en campo abierto en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México, de la colecta del 19 de Enero de 2016, 12) Control negativo (sin ADN).

b Frecuencia de biotipos de *Bemisia tabaci*

Se registraron los porcentajes de presencia de biotipos de individuos de *B. tabaci* en base a un total de 10 muestreos (10 a 15 insectos de *B. tabaci* analizados por muestreo y temperaturas calculadas en GDp), cuya presencia se distribuyó en un mayor porcentaje en el biotipo B en comparación con el biotipo Q; sin embargo, un número de muestras importantes fueron negativas al menos visualmente para la amplificación de ambos tamaños, no obstante estos insectos fueron positivos para los begomovirus analizados, por lo que se consideró que se trataba posiblemente de un biotipo diferente de *B. tabaci* (el cual para determinar a que biotipo corresponde es necesario utilizar una estrategia diferente a la que se planteó en el presente trabajo; utilizar oligos diseñados a partir de un fragmento del gen de la citocromo oxidasa mitocondrial, posteriormente enviar a secuenciar y finalmente hacer un análisis bioinformático para conocer el biotipo) que para fines de este estudio tentativamente se denominó Ot (Otros biotipos). El análisis de la presencia de amplificados en los diferentes tamaños arrojó los siguientes resultados: el biotipo B presentó la mayor frecuencia que fluctuó entre el 25 y 100%, seguido por Ot cuya frecuencia varió entre el 0 y 66.67%, y finalmente el biotipo Q, entre el 0 y 50% en relación con el total de insectos analizados (109) (Figura 13). Esta frecuencia de biotipos B y Q es muy similar a la descrita previamente por Heras-Gaspar en el ciclo agrícola de tomate 2013-2014, lo cual indica que el biotipo Q que es de mayor riesgo por su resistencia a insecticidas de uso común en la región, ha mantenido niveles de presencia similares a los descritos previamente (Heras-Gaspar 2015). El biotipo B se detectó en todos los muestreos, el Ot sólo en seis y el Q estuvo presente en ocho.

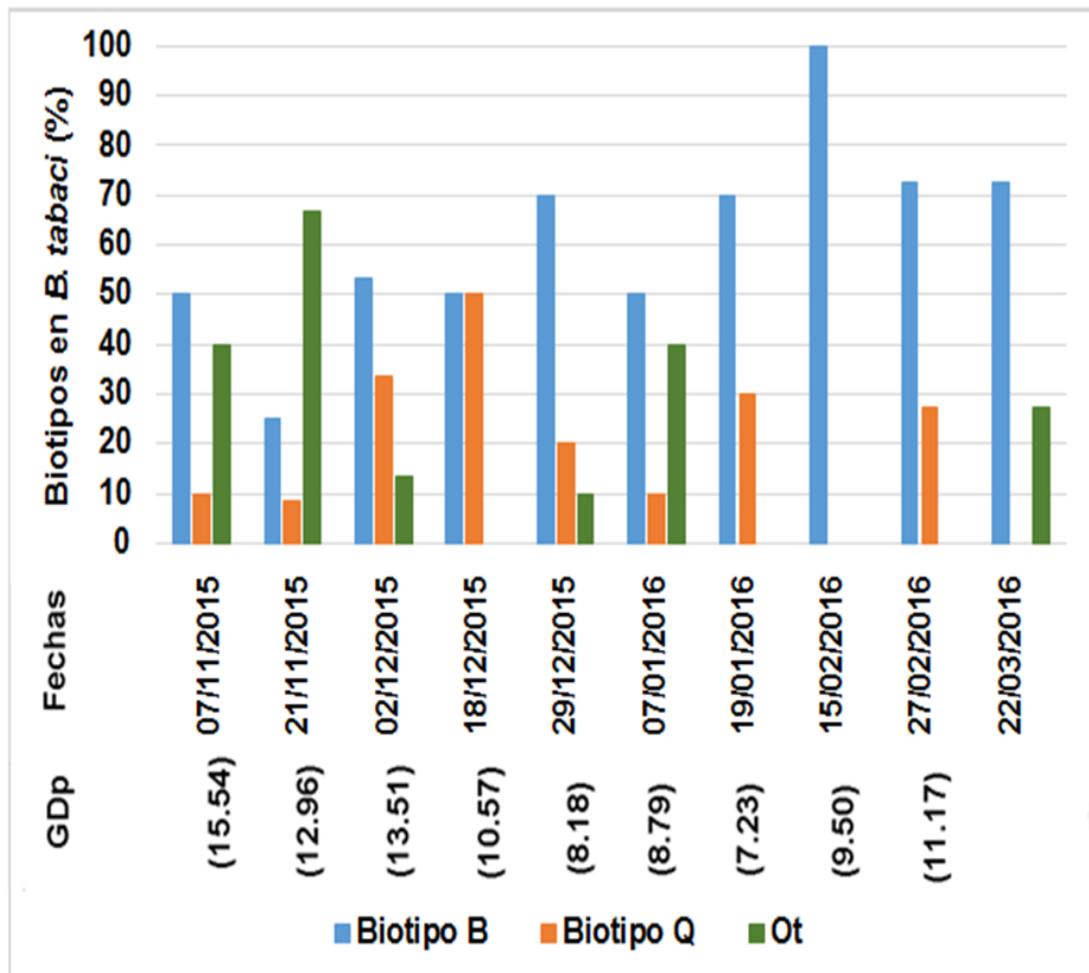


Figura 13. Frecuencia de los biotipos B, Q y Ot en cultivo de tomate en campo abierto durante el ciclo 2015-2016. Se realizaron un total de 10 muestreos entre el 7 de Noviembre y el 22 de Marzo en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa; para las primeras 9 colectas se muestran los GDp.

El biotipo B se presentó con un 100 % para el 15 de Febrero y con una menor presencia (25%) para el 21 de Noviembre, y con un 50% al inicio del muestreo (07 de Noviembre). Por su parte, el biotipo Q no estuvo presente el 22 de Marzo, adquiriendo un 10% al inicio del muestreo (07 de Noviembre), teniendo su mayor presencia el 18 de Diciembre con un 50%. En cambio, el biotipo Ot, no se manifestó el 18 de Diciembre, 19 de Enero y 27 de Febrero, presentando un 40% de presencia para el 07 de Noviembre (primer muestreo) y una mayor prevalencia para el 21 de Noviembre con un 66.67% (Figura 13).

Por otra parte, en el muestreo del 18 de Diciembre se encontró la mayor presencia del biotipo Q en el ciclo agrícola, con un 50%, proporción similar al biotipo B. Este comportamiento fue reportado en el ciclo agrícola de tomate 2013-2014 por Heras-Gaspar (2015) para el mes de Enero de 2014, mencionando una mayor prevalencia del biotipo B durante los meses de Febrero y Marzo del 2014, tendencia que se repitió en nuestros resultados del presente trabajo (Figura 13).

En general, la mayor población de biotipos de mosca blanca se registró en el B con un 60.55%, el biotipo Ot con un 20.18% y en forma similar a éste, el biotipo Q con un 19.27% (Figura 14).

Resultados similares fueron obtenidos en el 2014 en el Valle de Culiacán para los biotipos B y Q (Heras-Gaspar 2015), lo cual nos indica, una estabilidad observada al menos en estos dos ciclos agrícolas de diferentes años para ambos biotipos. Resultados previos en otras regiones del mundo como China, España o Israel, registran una mayor prevalencia del biotipo Q, argumentándose el manejo de insecticidas como un factor fundamental en el desarrollo de esta tendencia (Pan y col 2011; Horowitz y col 2005; Nauen y col 2002).

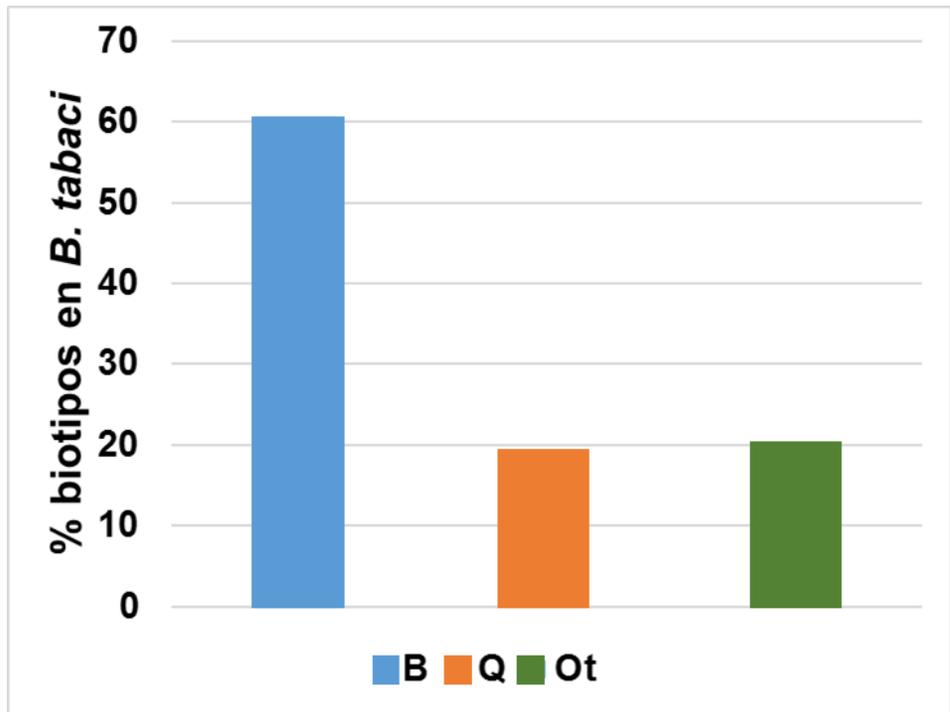


Figura 14. Porcentaje de biotipos B, Q y Ot de *Bemisia tabaci* en cultivo de tomate en campo abierto durante el ciclo 2015-2016, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

3 Detección e incidencia de TYLCV en *Bemisia tabaci* Genn.

Se detectó al virus TYLCV en el 57% del total de los insectos analizados a partir de un fragmento de ADN de 334 pb predicho para el mencionado virus (Salati y col 2002) (Figura 15). Estudios para la detección de este mismo patógeno en *B. tabaci*, fueron realizados por Pusag y col (2012) en forma general y por Heras-Gaspar (2015) de manera individual, por lo cual integramos esta última metodología en nuestros bioensayos para determinar el impacto de algunos factores ambientales como lo es la temperatura en la eficiencia de adquisición de begomovirus por *B. tabaci*.

La incidencia de TYLCV en biotipos de *B. tabaci* (n=10-15) estuvo presente entre 0% y 50 % en el biotipo B, del 0% al 50% para el biotipo Q y en el biotipo Ot entre 0% a 40%, en el ciclo agrícola de tomate 2015-2016, en el sitio San, Ignacio, Culiacán, Sinaloa . Además, en el muestreo del 15 y 27 de Febrero no se detectó incidencia de TYLCV en biotipos de *B. tabaci*. Por otro lado, al inicio del muestreo, la incidencia del TYLCV en el biotipo B se mostró en un 50%, en el biotipo Q en un 10% y en el Ot en un 40%, mientras que en el último muestreo en los biotipos B y Q no se presentó incidencia del TYLCV, y el en biotipo Ot se detectó en el 27.27% (Figura 16).

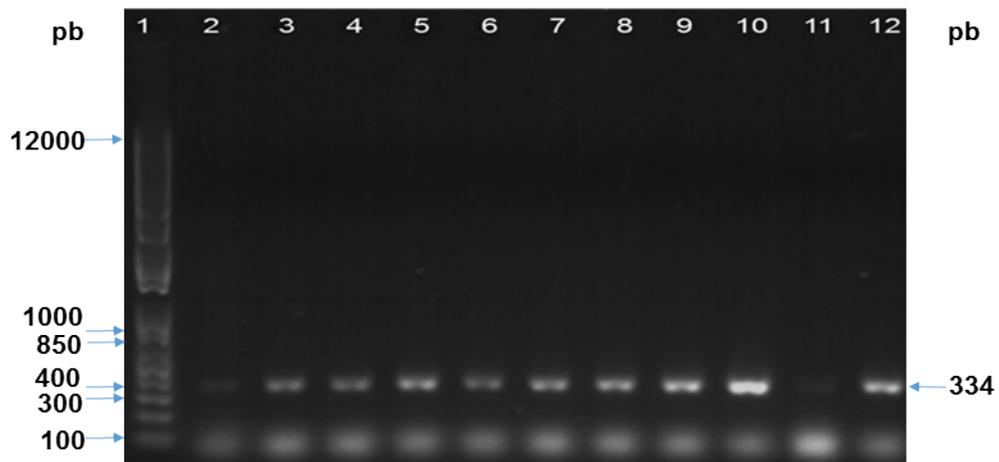


Figura 15. Amplificaciones de TYLCV en *Bemisia tabaci*. Carriles: 1) Marcador molecular de 1 Kb, 2) Muestra de ADN positiva (de *Bemisia tabaci*, anteriormente secuenciada), 3 al 12) Muestras de ADN de todos los muestreos (una seleccionada por muestreo) colectadas en campo abierto, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

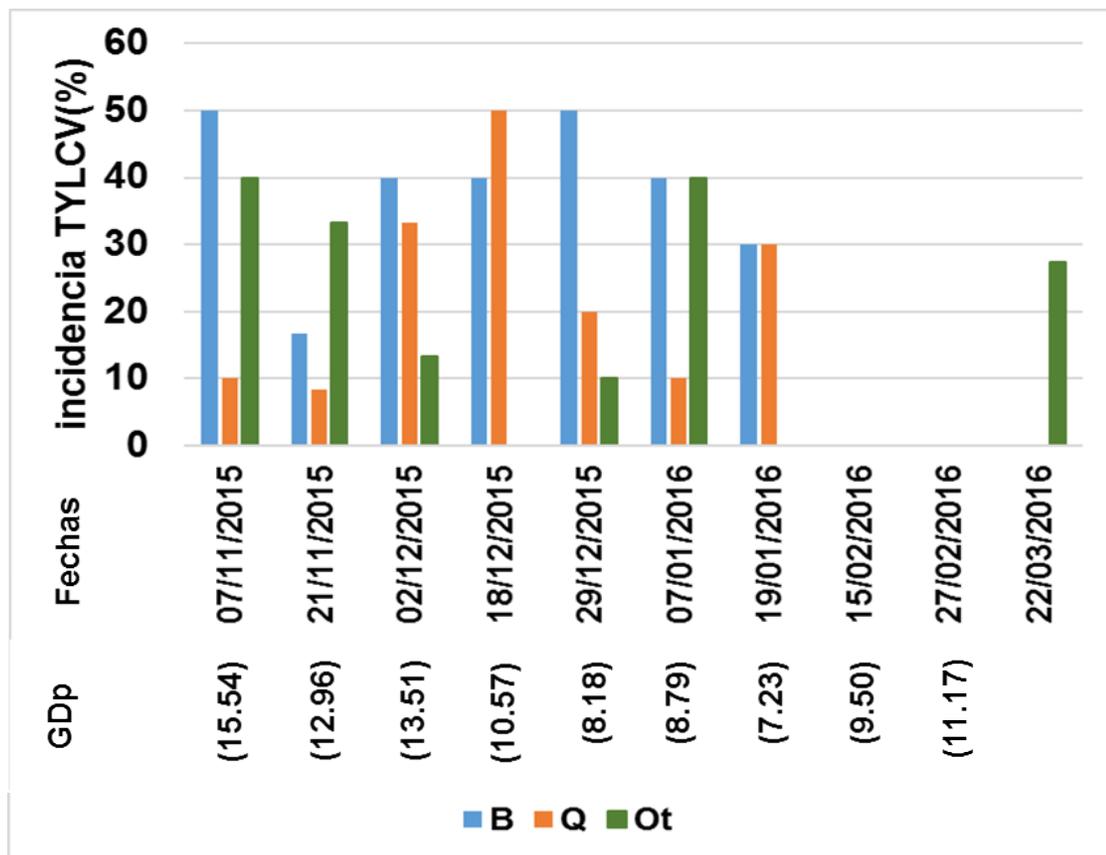


Figura 16. Biotipos de insectos de *Bemisia tabaci* con incidencia de TYLCV en cultivo de tomate en campo abierto durante el ciclo 2015-2016, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México; para las primeras 9 colectas se muestran los GDP.

4 Detección e incidencia de PHYVV en *Bemisia tabaci*

Se obtuvo la amplificación de un fragmento de 350 pb predicho para PHYVV (Torres-Pacheco y col 1996) (Figura 17). La presencia del begomovirus se observó en un 56% del total de insectos analizados.

Garzón-Tiznado y col (1993) reportaron por primera vez al PHYVV en plantas de Chile, mencionando que el insecto vector de dicho virus es *Bemisia tabaci*. Por otro lado, Torres-Pacheco y col (1996) detectaron al PHYVV en plantas de Chile con síntomas de la enfermedad ocasionada por dicho virus. De igual manera, Cervantes-Díaz y col 2009, Medina-Ramos y col (2008), Garzón-Tiznado y col (2002) también detectaron PHYVV en plantas de Chile. Por otra parte, Retes-Manjarez y col (2016) detectaron la presencia de PHYVV en el biotipo B de *B. tabaci* en Sinaloa, México; sin embargo, hasta la fecha no existen reportes de la detección de este virus en *B. tabaci* biotipo Q, siendo éste el primer reporte de este patógeno en el mencionado biotipo.

La incidencia de PHYVV en biotipos de *B. tabaci* (n= 3-15) estuvo presente entre el 0 y 70 % en el biotipo B, del 0 al 33.33% en el biotipo Q y en el biotipo Ot entre 0 a 66.67%, en el ciclo agrícola de tomate 2015-2016, en el sitio San, Ignacio, Culiacán, Sinaloa. Sin embargo, en el muestreo del 18 de Diciembre del 2015 no se detectó la incidencia del PHYVV en ninguno de los biotipos de *B. tabaci*, además, el 15 y 27 de Febrero sólo se presentó la incidencia de PHYVV en el biotipo B con 60 y 18.18% respectivamente (Figura 18).

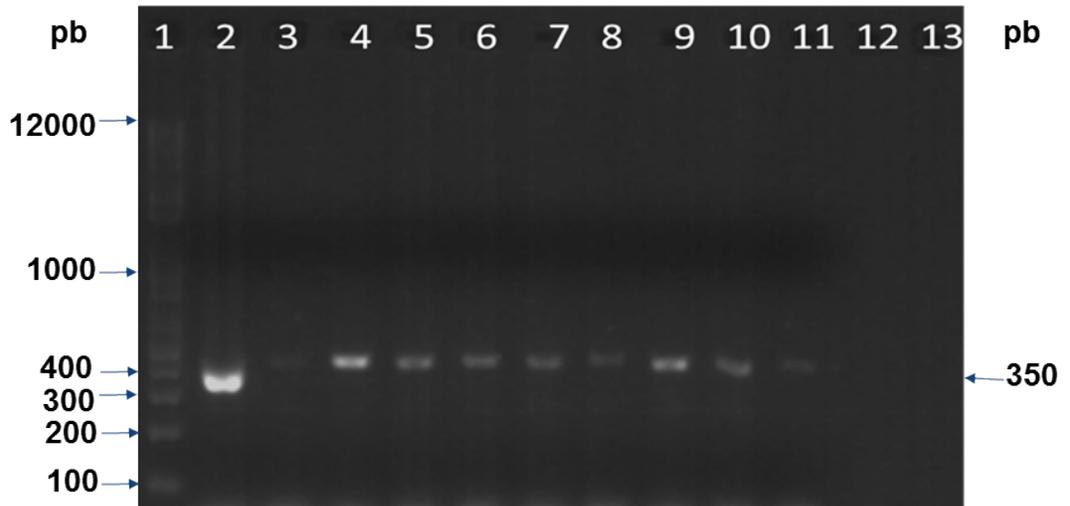


Figura 17. Detección de PHYVV en *Bemisia tabaci* en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa. Carriles: 1) Marcador molecular de 1 Kb, 2) Muestra de ADN de tejido vegetativo positiva (de planta, anteriormente secuenciada), 3-12) Amplicones de ADN del muestreo del 19 de enero de 2016, 13) Control negativo (sin ADN).

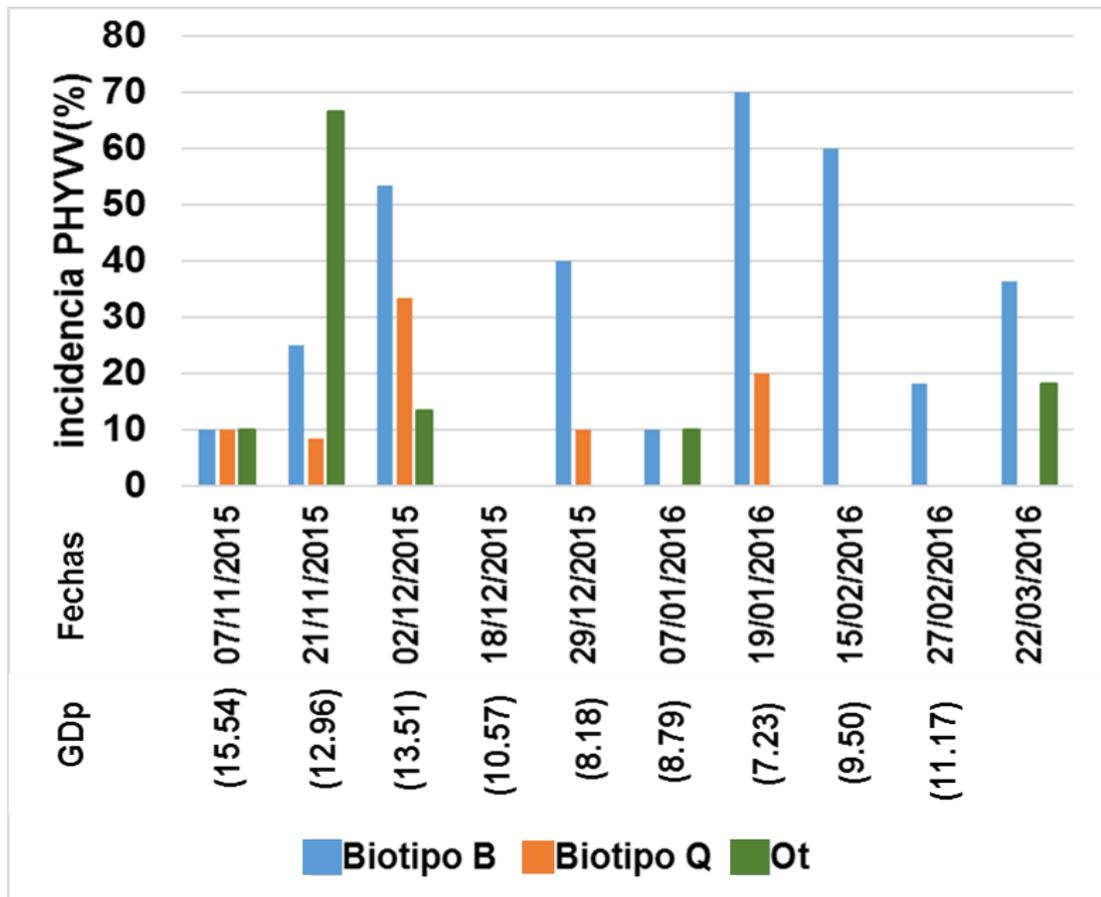


Figura 18. Biotipos de insectos *Bemisia tabaci* con incidencia de PHYVV en cultivo de tomate en campo abierto durante el ciclo 2015-2016, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México; para las primeras 9 colectas se muestran los GDP.

5 Co-infección entre el TYLCV y el PHYVV en *Bemisia tabaci*

La detección de ambos begomovirus (TYLCV y PHYVV) en *Bemisia tabaci* en el presente trabajo fue mixta en un 32% e individual en un 27% para TYLCV y 25% para PHYVV. Sin embargo, no se hallaron reportes similares a nuestro estudio, los que se encontraron publicados describen el proceso de co-infecciones entre begomovirus pero en tejido de plantas, tal es el caso de los estudios de Garzón-Tiznado y col (2002) quienes reportaron la infección mixta de PHYVV y TPV-T (virus texano del chile-Tamaulipas) en especies cultivadas de tomate y chile; obtuvieron la mayor prevalencia del PHYVV con un 79%, seguido por el TPV-T con un 12% y con un 10% la mezcla de ambos virus. Por otro lado, Reveles y col (2012) reportaron una infección mixta de los begomovirus PHYVV y PepGMV (virus del mosaico dorado del chile) en plantas de chile en un 80% del total de muestras analizadas, encontrando también la presencia del curtovirus BMCTV (virus de la hoja rizada de la remolacha), siendo el PepGMV y el BMCTV quienes tuvieron un 100% de presencia. En otro estudio realizado por Lugo Melchor y col (2011), encontraron al virus del TYLCV en un 64.2% de las muestras positivas analizadas, al SLCV (Virus del enrollamiento de la hoja de la calabaza) en un 22.4% y una coinfección del 6.7% con ambos virus.

C ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE SÍNTOMAS DE BEGOMOVIRUS EN PLANTAS Y BIOTIPOS DE *Bemisia tabaci*

1 Análisis estadístico de asociación de la presencia de *Bemisia tabaci* y el porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus

Se obtuvo una correlación positiva entre la presencia de *B. tabaci* y el porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus (Figura 19) debido a que, conforme aumentó el número de insectos en el cultivo, se apreció un incremento en el porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus; obteniéndose un valor de P de 0.002 y un valor de R cuadrada (R^2) = 0.869.

Algunos estudios parcialmente relacionados con el incremento de la población de *B. tabaci* y la incidencia del TYLCV han sido reportados por otros autores, concluyendo que un incremento en la población de *B. tabaci* está relacionado con un aumento de la incidencia del TYLCV (Loannou y Lordanou 1985; Hazem 2013).

2 Análisis estadístico de asociación de GDpA y *Bemisia tabaci* en plantas

Se obtuvo una correlación entre el índice de temperatura GDpA (grados día promedio acumulados) y la presencia de *B. tabaci* en plantas (Figura 20), observándose que al aumentar los GDpA se incrementaba la cantidad de moscas blancas por planta, alcanzando un valor P de 0.000 y $R^2 = 0.968$, siendo éste un buen valor para el modelo. Estos resultados indican la preferencia de la mosquita blanca hacia temperaturas altas relativas, lo cual ha sido consignado por otros investigadores como se menciona a continuación.

Ahmad Zeshan y col (2015), reportaron que a mayor temperatura (36 a 45°C) y menor humedad relativa (46 a 60 %) el desarrollo de *B. tabaci* es más rápido. Así mismo, Muñiz y Nombela (2001) obtuvieron resultados similares a partir de 33°C, encontrando además que temperaturas de 37 a 42°C son letales para este insecto. Por otro parte, en otros estudios se reportó que este insecto

puede sobrevivir a temperaturas por encima de 35°C, pero que temperaturas por arriba de 37°C son letales para el mismo (Bonato y col 2006; Jian-Ying Guo 2013).

3 Análisis estadístico de asociación de GDpA y porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus

Se obtuvo una correlación entre los GDpA y el porcentaje de begomovirus (Figura 21) ya que, conforme los GDp se acumularon, el porcentaje de plantas con begomovirus aumentó, obteniéndose un valor $P= 0.000$ y $R^2= 0.976$.

Nuestros resultados son similares a los descritos por diversos autores, donde se reporta que, al generarse un aumento en la temperatura, la incidencia de geminivirus también incrementa (Hazem 2013; Antignus y col 2001; Alemandri y col 2012), por lo que este incremento está asociado a la preferencia del vector por esas temperaturas.

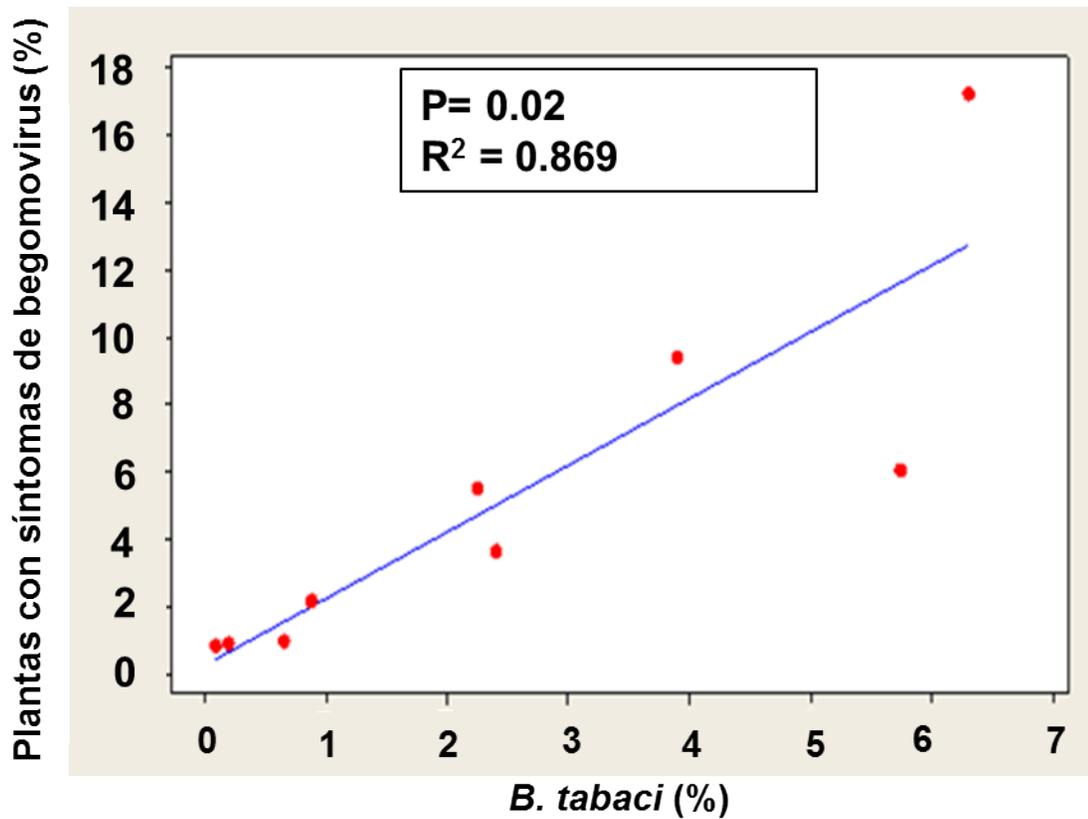


Figura 19. Correlación de Pearson del porcentaje de individuos de *Bemisia tabaci* y el porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus en el ciclo agrícola 2015-2016, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

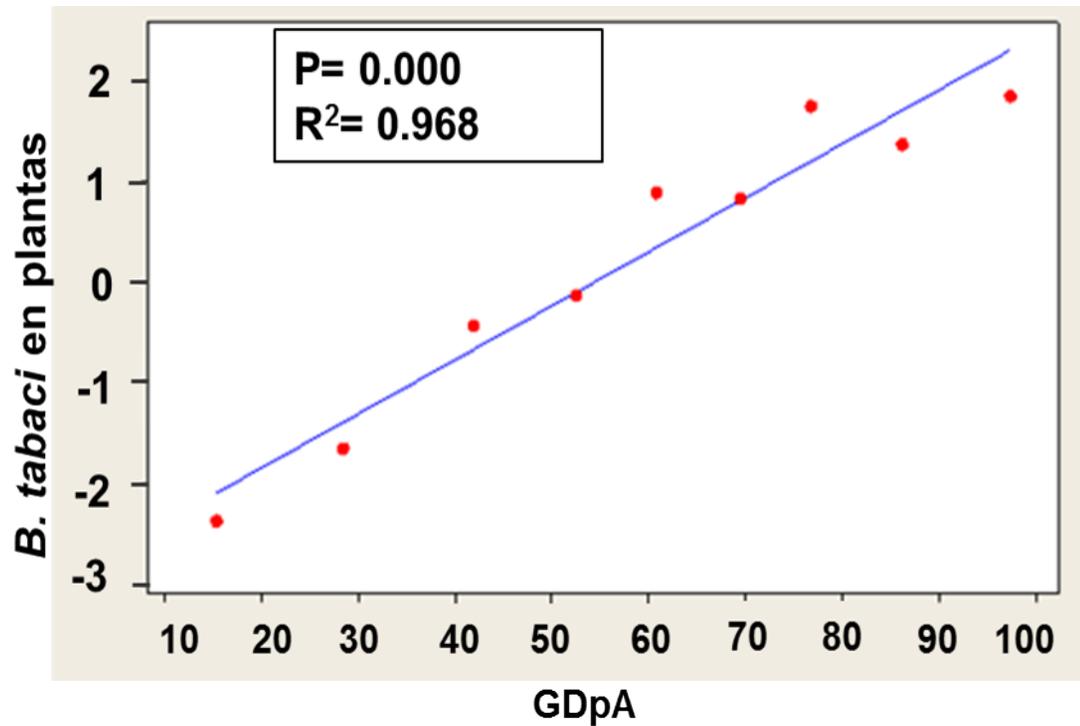


Figura 20. Correlación de Pearson entre GDpA y *Bemisia tabaci* en plantas de tomate, en el ciclo agrícola 2015-2016, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

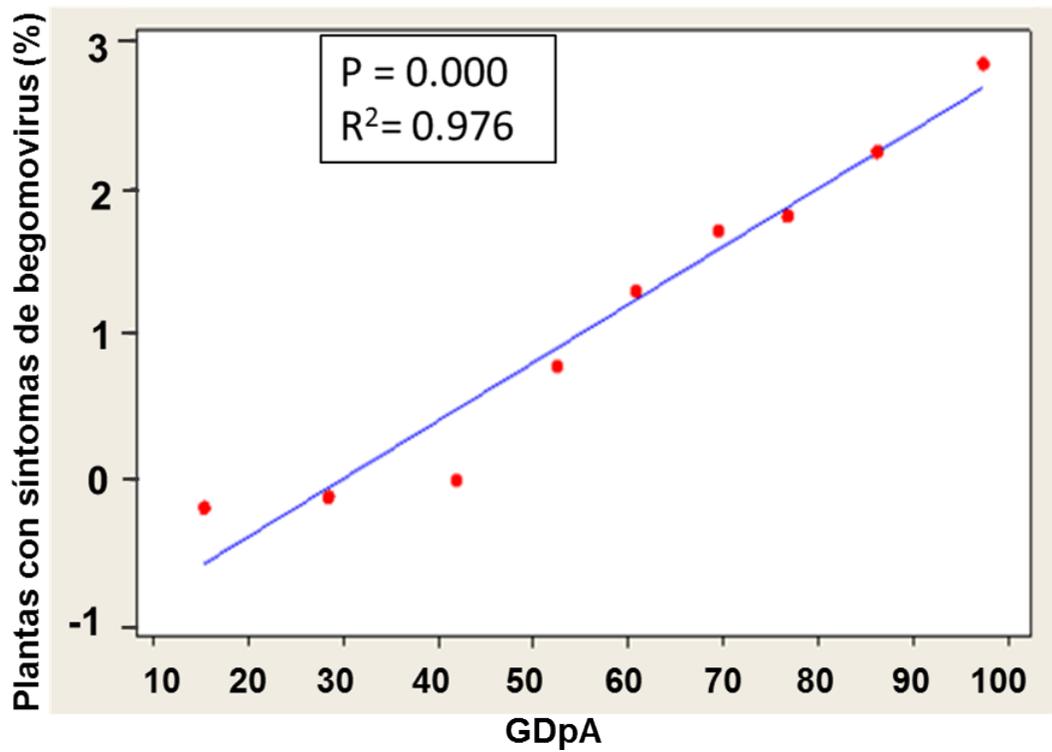


Figura 21. Correlación de Pearson entre GDpA y porcentaje de plantas con síntomas de begomovirus, en el ciclo agrícola 2015-2016, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

4 Análisis de asociación entre biotipos de *Bemisia tabaci* y grados día promedio acumulados

Para determinar la relación que existe entre GDpA y la población de biotipos del insecto se realizó un análisis de regresión de Poisson. La interacción del porcentaje de la presencia de biotipos de mosca blanca en relación a GDpA, muestra que hay una respuesta positiva del biotipo B, ya que se incrementó la población en la medida que se acumularon los GDp. Lo inverso ocurrió con el biotipo Ot (biotipo no identificado), lo cual indica una correlación negativa con GDpA; sin embargo, en el biotipo Q se observó un comportamiento estable independientemente de la acumulación de GDp (Figura 22).

Al revisar el comportamiento de los biotipos B, Q y Ot en comparación con dos diferentes grados día promedio (15.54 y 11.17 GDp) correspondientes al primero (realizado en la etapa de tercera flor del cultivo) y al último muestreo respectivamente (realizado durante la cosecha). Se observó una mejor respuesta hacia el menor promedio de grados día (11.17 GDp) en el biotipo B el cual se detectó en un 86%, una respuesta negativa en el biotipo Ot (4%) y un comportamiento intermedio en el Q (22%). Una respuesta contraria se registró a 15.54 GDp entre los biotipos B y Ot; con una menor población del biotipo B (38%) y una mayor del Ot (57%), en el caso del biotipo Q, su comportamiento fue similar en ambos GDp (Figura 23). Con esto se confirma el comportamiento de estos biotipos al comparar los resultados descritos en las Figura 22 y Figura 23. El valor R cuadrada (R^2) de desviación fue de 59.50%, y un valor de R^2 (ajustada) de desviación de 58.79%; aunque los valores de R no fueron tan altos, el modelo funcionó para hacer el análisis de medias ajustadas, tomando en consideración un nivel de significancia (α)= 0.05.

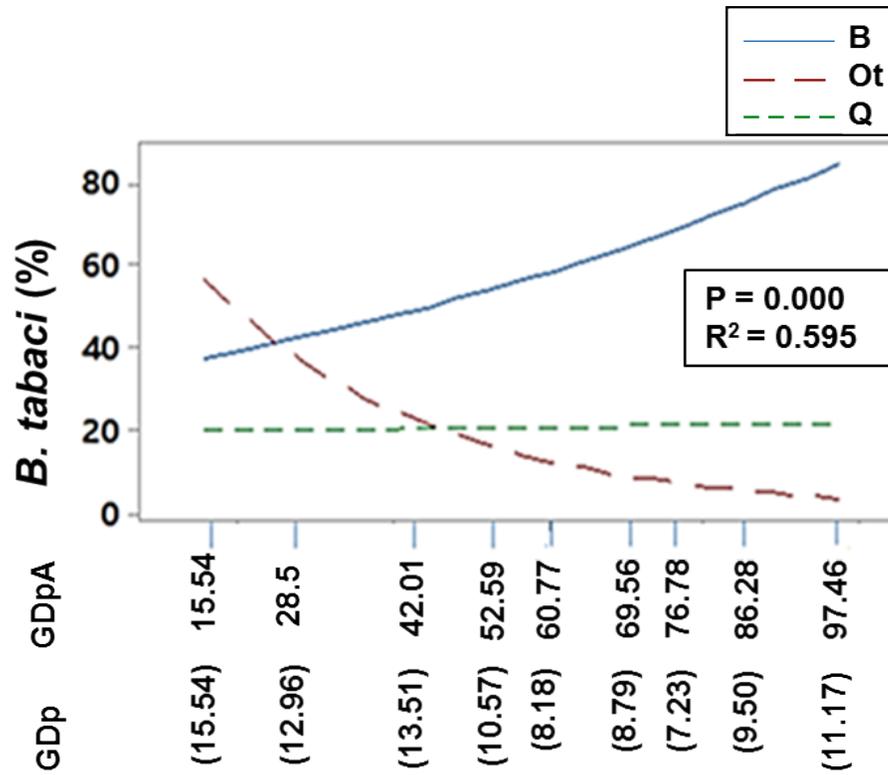


Figura 22. Gráfica de interacción entre porcentaje de presencia de biotipos de *Bemisia tabaci* y GDpA en el ciclo agrícola 2015-2016, en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.

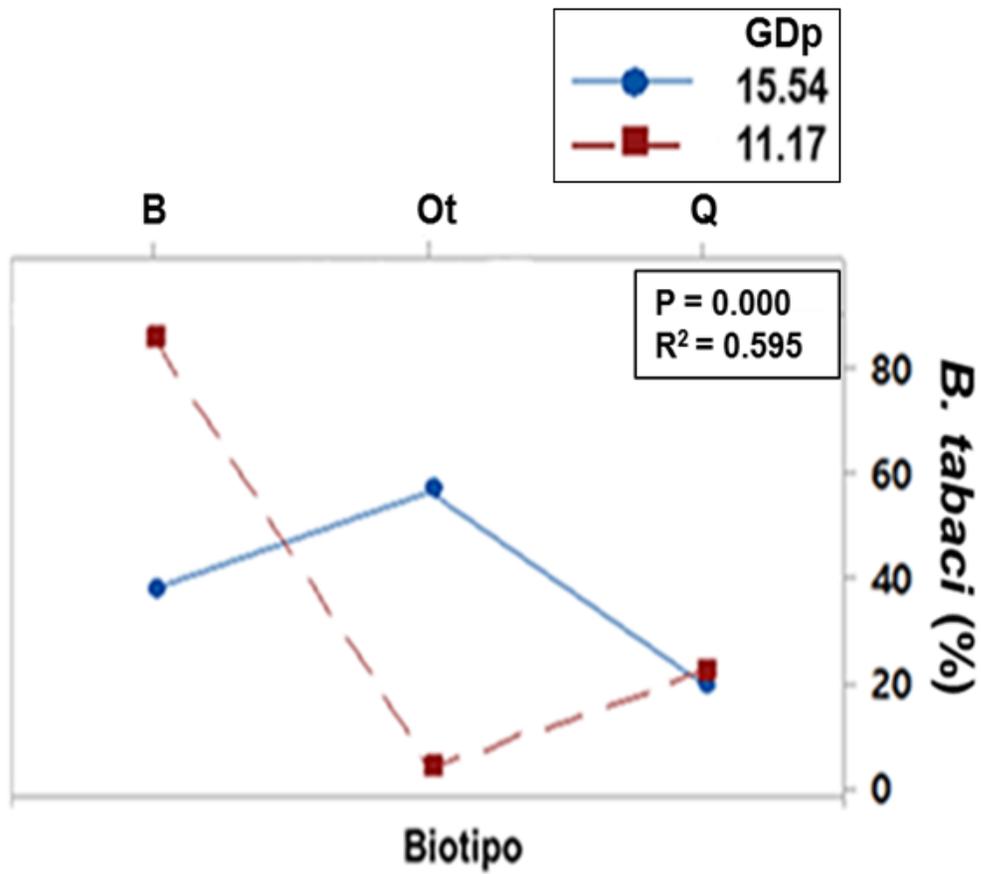


Figura 23. Gráfica de Interacción entre porcentaje de presencia de biotipos de *Bemisia tabaci* y límites inferior y superior de GDp, en el ciclo agrícola 2015-2016, en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.

5 Análisis de asociación entre biotipos de *Bemisia tabaci* con incidencia de TYLCV y grados día promedio acumulados

La presencia del TYLCV en mosca blanca colectadas en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, durante los meses de Noviembre y Diciembre del ciclo 2015 y de Enero y Febrero del ciclo 2016, se representa en las Figura 24 y Figura 25 donde se observa la incidencia de TYLCV en *B. tabaci* en relación a GDp y GDpA. Los resultados indicaron que la incidencia de TYLCV en el biotipo B registró una tendencia negativa con los GDpA, cuando las temperaturas fueron menores, una respuesta similar se pudo observar en la incidencia del TYLCV en el biotipo Ot y una pendiente con tendencia ligeramente negativa en el biotipo Q (Figura 24).

Se llevó a cabo el análisis del comportamiento de los biotipos B, Q y Ot (Figura 25) en dos GDp (15.54 y 11.17) en donde se confirmó el comportamiento del TYLCV, cuya incidencia en mosca blanca se redujo en la medida que los GDp fueron menores (Figura 24). Se obtuvo una mayor incidencia del TYLCV en el biotipo B (52%) a 15.54 GDp seguido por el Ot (41%) y una incidencia menor (16%) a 11.17 GDp en el biotipo B, sin embargo el comportamiento de este begomovirus en el biotipo Ot (4%) mantuvo una tendencia a la baja en el menor nivel de temperatura (11.17 GDp), se obtuvo un comportamiento más estable en la adquisición de este begomovirus por el biotipo Q (13%) a esa misma temperatura, y a 15.54 GDp con un 25% de presencia de este biotipo (Figura 25). Lo anterior confirma los resultados descritos en la Figura 24, con un valor R^2 de desviación fue de 30.22%, y un valor de R^2 (ajustada) de desviación de 29.31%, aunque los valores de R^2 no fueron tan altos, el modelo funcionó para hacer el análisis de medias ajustadas, tomando en cuenta un $\alpha = 0.05$. Resultados similares, para el TYLCV, fueron reportados por Heras-Gaspar (2015) quien obtuvo una mayor prevalencia de insectos virulíferos a medida que los grados día incrementaban.

Se han encontrado pocos reportes similares a los de este trabajo en la literatura consultada. Sin embargo, algunas características biológicas han sido estudiadas por diferentes autores como es el caso de Pan y col (2011), quienes reportaron que el biotipo Q adquiere el TYLCV con mayor eficiencia que el B, no obstante, la retención del virus fue similar entre ambos biotipos. Por otro lado, la eficiencia en la adquisición del TYLCV representa un factor importante en la transmisión del virus y por consiguiente, en la incidencia de plantas con virus en las cuales el biotipo Q tiene mayor preferencia en ovopositar en plantas infectadas con TYLCV en comparación con plantas sanas, así mismo, la tasa de sobrevivencia, longevidad y fecundidad es más alta en plantas infectadas con virus (Chen y col 2013).

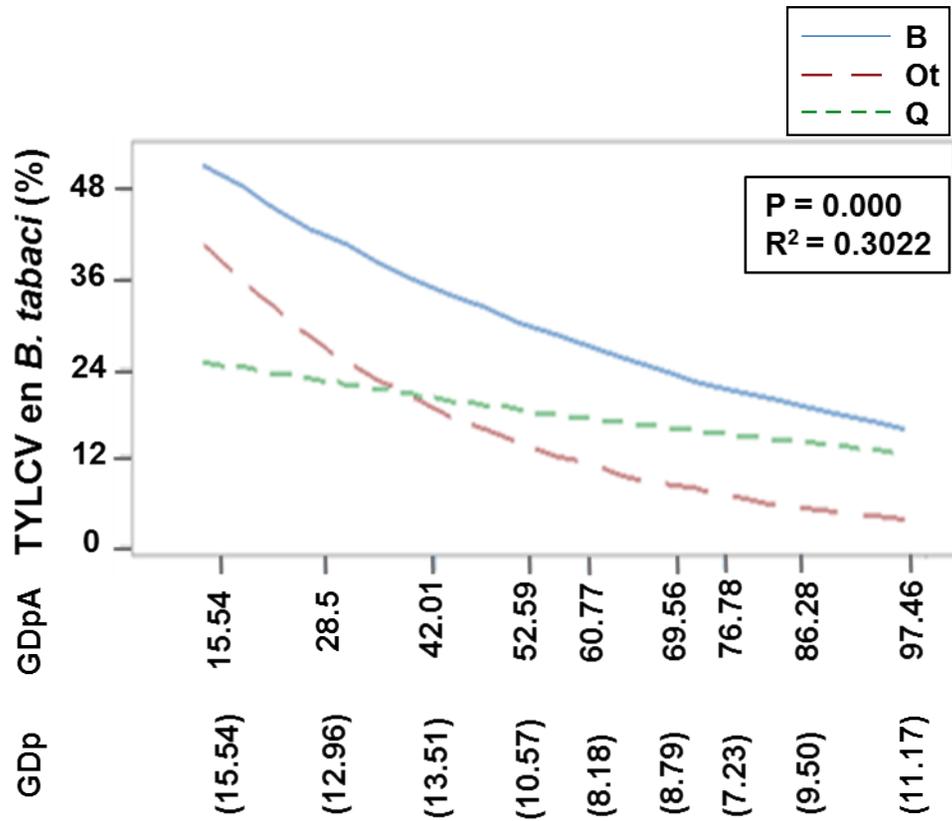


Figura 24. Gráfica de interacción entre grados día promedio acumulados y porcentaje de biotipos de *Bemisia tabaci* con incidencia de TYLCV, en el ciclo agrícola 2015-2016, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

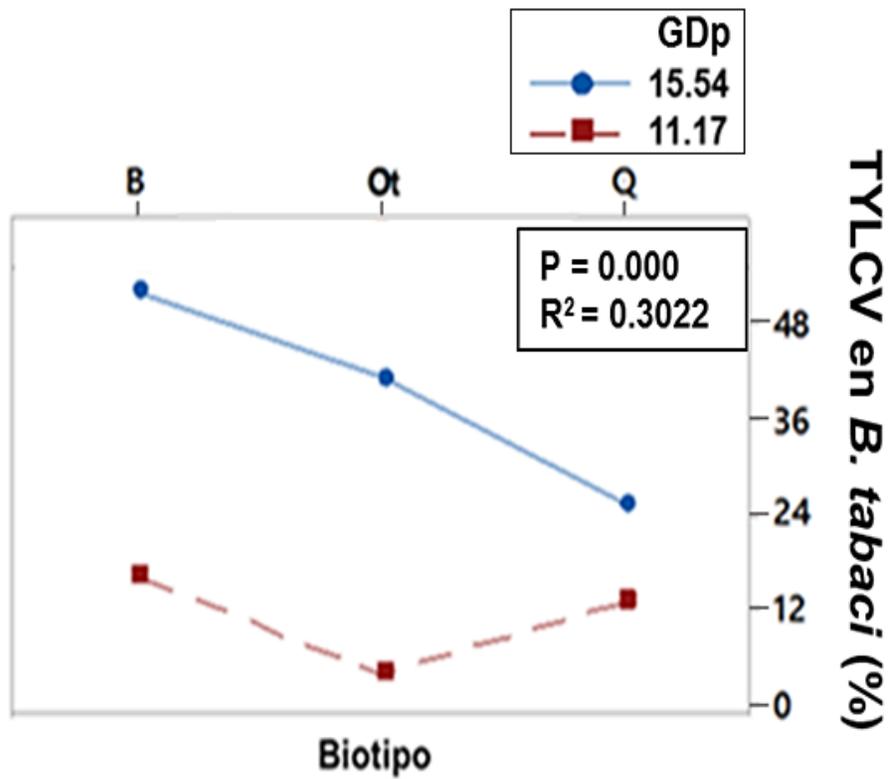


Figura 25. Gráfica de interacción entre porcentaje de presencia de biotipos de *Bemisia tabaci* con incidencia de TYLCV y límites inferior y superior de grados día promedio, en el ciclo agrícola 2015-2016, en el Sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa, México.

6 Análisis de asociación entre biotipos de *Bemisia tabaci* con incidencia de PHYVV y grados día promedio acumulados

En las Figura 26 y Figura 27 donde se graficó la interacción entre GDpA y el porcentaje de incidencia de PHYVV en biotipos de *B. tabaci*, se puede apreciar que este begomovirus tuvo un comportamiento inverso al TYLCV en el biotipo B (Figura 24 y Figura 25) ya que el mayor porcentaje de la incidencia de PHYVV en este biotipo se registró conforme los GDp tendieron a la baja, coincidiendo el incremento en la incidencia con los GDpA. Lo anterior indica que las temperaturas promedio y no las acumuladas representan un factor importante en esta interacción entre el begomovirus y el insecto para el caso del biotipo B. Respecto al biotipo Ot la incidencia de PHYVV mantuvo una tendencia similar a la observada en el TYLCV para este biotipo; se manifestó una mayor incidencia del PHYVV al inicio del monitoreo donde se registraron 15.54 GDp con una tendencia a la baja a medida que los GDp fueron menores (Figura 26). Este comportamiento se puede explicar, ya que el biotipo Ot fue el más afectado por el menor nivel de GDp y acumulación de GDp en comparación con los biotipos B y Q (Figura 24, Figura 25 y Figura 26). Por otro lado, la presencia del biotipo Q con incidencia de PHYVV confirmó una relación más estable en relación con la temperatura, aunque con niveles bajos de incidencia (Figura 26). Estas observaciones se pueden confirmar en la Figura 27, en donde la incidencia del PHYVV en el biotipo B respondió mejor a 11.17 GDp (45% de presencia), en comparación con el nivel de temperatura más alto registrado (15.54 GDp) en el que se presentó en un 21%, similar al biotipo Q (17%).

Por el contrario, el biotipo Ot manifestó una mejor respuesta en la incidencia del PHYVV a 15.54 GDp con el 41% y una menor incidencia a 11.17 GDp (1%), para el biotipo Q la incidencia a 11.17 GDp fue del 5% (Figura 26), donde el valor de R^2 de desviación estándar fue de 41.72% y un valor de R^2 (ajustada) de desviación de 41%, lo que indica que el modelo no es muy bueno, sin embargo, funciona para hacer el análisis de medias ajustadas, tomando en consideración un $\alpha = 0.05$. A la fecha no se han encontrado reportes donde se analice el efecto de la temperatura sobre la eficiencia de adquisición del PHYVV por *B. tabaci*, siendo estos los primeros estudios al respecto.

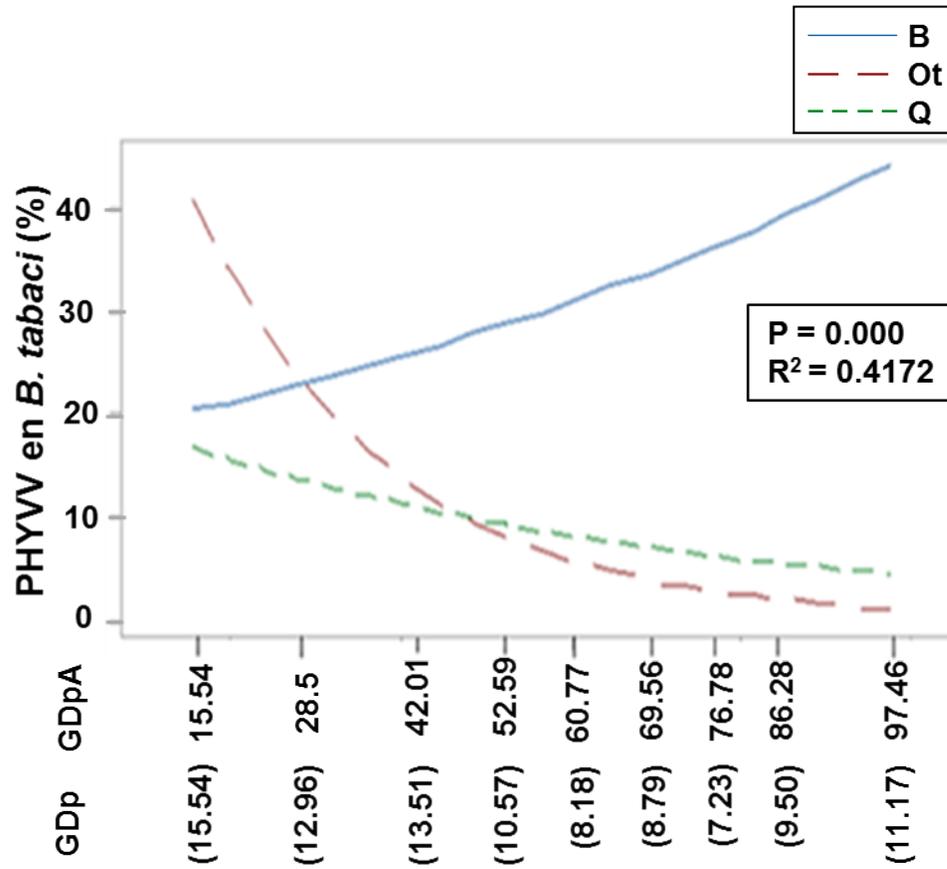


Figura 26. Gráfica de interacción entre grados día promedio acumulados y porcentaje de biotipos de *Bemisia tabaci* con incidencia de PHYVV, en el ciclo agrícola 2015-2016 en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.

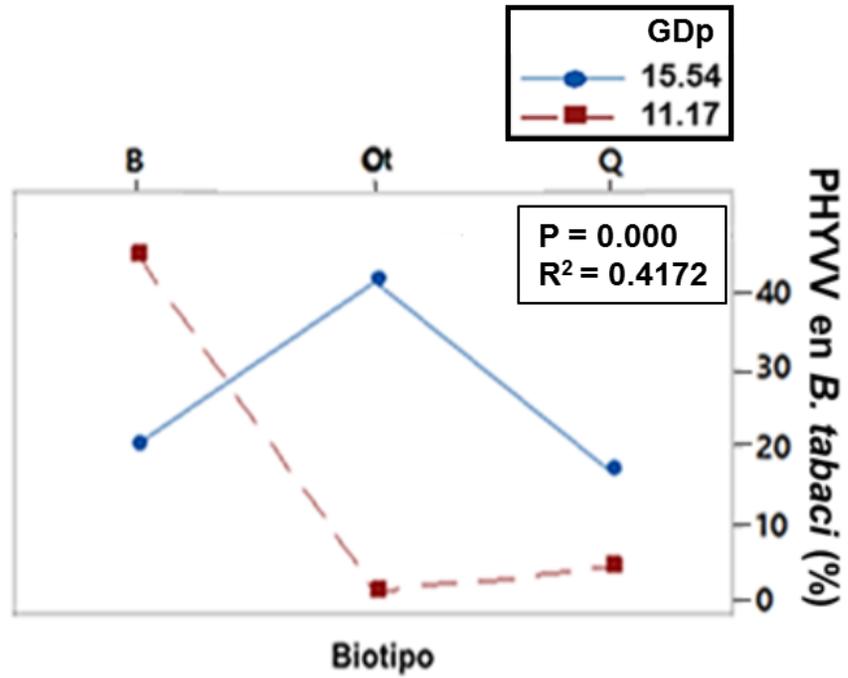


Figura 27. Gráfica de interacción entre porcentaje de presencia de biotipos de *Bemisia tabaci* con incidencia de PHYVV y límites inferior y superior de grados día promedio, en el ciclo de muestreo 2015-2016 en el sitio San Ignacio, Culiacán, Sinaloa.

VIII CONCLUSIONES

1. Se detectó la presencia de los biotipos B (60.55%), Q (19.27%) y otros u otros no identificados (20.18%).
2. Se registró una relación inversa en la presencia del biotipo B y los GDp.
3. La presencia del TYLCV y PHYVV por insecto se detectó en forma individual o en mezclas de ambos begomovirus.
4. Se detectó la presencia de los begomovirus TYLCV en un 57% y PHYVV en el 56% en los insectos analizados de *B. tabaci*.
5. Se encontró una relación inversa entre el porcentaje de presencia de PHYVV en el biotipo B y los GDp, mientras que en el caso de TYLCV se observó una relación directa con respecto a los GDp, lo cual confirma que las condiciones de temperatura son un factor importante en la adquisición de TYLCV y/o PHYVV por *B. tabaci*.

IX BIBLIOGRAFÍA

- Alemandri V., P. Rodríguez Pardina, J. Izaurralde, S. García Medina, E. Argüello Caro, M. F. Mattio, A. Dumón, S. M. Rodríguez y G. Truol. 2012. Incidencia de begomovirus y caracterización climática del complejo *Bemisia tabaci*-geminivirus en soja y poroto en Argentina. *Agriscientia* 29: 31-39.
- Anthony N. M., J. K. Brown, P. G. Markham, R. H. French-Constant. 1995. Molecular analysis of cyclodiene resistance-associated mutations among populations of the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 51:220-228.
- Antignus Y., Nestel D., Cohen S. y Lapidot M. 2001. Ultraviolet-Deficient Greenhouse Environment Affects Whitefly Attraction and Flight-Behavior. *Pest Management and Sampling. Environ. Entomol.* 30(2): 394-399.
- Anzola D. y Lastra R. 1985. Whiteflies population and its impact on the incidence of potato yellow virus in Venezuela. *Journal of Phytopathology* 112(4):363-366.
- Arnó J., Roig J., Gabarra R. 2008. *Bemisia tabaci* biotype Q and its natural enemies in vegetable and ornamental crops. *Journal of Insect Science* 8:5-6. Academic One File.
- Ascencio Ibáñez J.T., Díaz Plaza R., Méndez Lozano J., Monselve Fonnegra Z. L., Arguello Astorga G.R., Rivera Bustamante R.F. 1999. First report of Tomato yellow leaf curl geminivirus in Yucatán, México. *Plant Disease* 83 (12):1178.
- Bale J.S., Masters G.J., Hodkinson I.D., Awmack C., Bezemer T.M., Brown V.K., Butterfield J., Buse A., Coulson J.C., Farrar J., Good J.E.G., Harrington R., Hartley S., Jones T.H., Lindroth R.L., Press M., Symnioudis I., Watt A.D., Whittaker J.B. 2002. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology* 8:1-16.

- Bayer CropScience: Science for a better life. 2016. Estados Unidos de América. Disponible en <https://www.cropscience.bayer.com>. Consultado el 16 de Enero de 2016.
- Bedford I.D., Briddon R.W., Markham P.G., Brown J.K., Rosell R.C. 1994. A new species of Bemisia or biotype of *Bemisia tabaci* (Genn) as a future pest of European agriculture. Plant Health and the European Single Market, BCPC Monograph, 54:381-386.
- Bedford I. D., Briddon R. W., Brown J. K., Rosell R. C., Markham P. G. 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. Annals of Applied Biology, 125: 311–325.
- Bellows T., Perring T., Gill, R., Headrick, D. 1994. Description of a species of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Analysis of the Entomological Society of America, 87(2):195-206.
- Berlinger M. J. 1986. Host Plant Resistance to *Bemisia tabaci*. Agric. Ecosystems Environ. 17:69-82.
- Bernardo P., Golden M., Akram M., Naimuddin, Nadarajan N., Fernandez E., Granier M., Rebelo A. G., Peterschmitt M., Martin D. P., Roumagnac P. 2013. 'Identification and Characterization of a Highly Divergent Geminivirus: Evolutionary and Taxonomic Implications', Virus Research 177:35–45.
- Bethke J., Paine T., Nuessly G. 1991. Comparative biology, morphometrics and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. Analysis of the Entomological Society of America, 84(4):407-411.
- Bonato O., Lurette A., Vidal C. y Fargues J. 2007. Modelling temperature-dependent bionomics of *Bemisia tabaci* (Q-biotype). Physiological Entomology (32) 50–55.
- Bonhomme R. 2000. Bases and limits to using 'degree day' unit. European Journal of Agronomy 13:1-10.

- Briddon R., Patil B., Bagewadil B., Naqazul Rehman M, Fauquet C. 2010 .“Distinct evolutionary histories of the ADN-A and ADN-B components of bipartite Begomoviruses. BMC Evolutionary Biology 10 (97).
- Brown K. J., Nelson M. R. 1988. Transmission, host range and virus-vector relationships of tomato chino virus, a whitefly-transmitted geminivirus from Sinaloa, México. Plant disease 72 (10).
- Brown J. K., Bird J. 1992. Whitefly transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin. Plant disease 76:220-225.
- Brown J. 1993. Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América, de 1989 a 1992. In Las moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. 1992. Turrialba, Costa Rica. Memorias del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. Eds. L. Hilje; O. Arboleda. CATIE. Serie Técnica. Informe técnico No. 205. p. 1-9.
- Brown J.K. 1994. The status of *Bemisia tabaci* (Genn.) as a pest and vector in world agroecosystems. FAO Plant Protection Bulletin 42: 3–32.
- Brown J.K., Coast S.A., Bedford I.D., Markham P.G., Bird J., and Frohlich D. R. 1995. Characterization and Distribution of Esterase Electromorphs in the Whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). Biochemical Genetics, Vol. 33, Nos. 7/8.
- Brown J.K., and A.M. Idris. 2006. Introduction of the exotic monopartite *Tomato yellow leaf curl virus* into west coast Mexico. Plant Disease. 90: 1360.
- Buchmann R.C., Asad S., Wolf J.N., Mohannath G., Bisaro D.M. 2009. Geminivirus AL2 and L2 proteins suppress transcriptional gene silencing and cause genome-wide reductions in cytosine methylation. J Virol 83:5005–5013.
- Bush G. 1994. *Bemisia tabaci*; Biotype or species complex. Memorial II Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus 2: 17-24.

- Bukovinszky T. 2004. Tailoring complexity: multitrophic interactions in simple and diversified habitats. PhD thesis, Wageningen University.
- Byrne E., Bringaud F., Simpson L. 1995. Molecular Biochemistry. Parasitología. In press.
- Byrne D.N., Bellows T.S. 1991. Whitefly biology. Annual Review Entomology (EE. UU). 36: 431-57.
- Carapia R.V.E, Castillo-Gutiérrez A. 2013. Estudio comparativo sobre la morfología de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). Acta Zoológica Mexicana (n. s.), 29(1):178-193.
- Carrington L.B., Armijos M.V., Lambrechts L., Barker C.M., Scott T.W. 2013. Effect of fluctuating daily temperature at critical thermal extremes on *Aedes aegypti* life-history traits. Plos one 8: e58824.
- Castañé C., Arnó J., Beitia F., Gabarra R. 2008. Control biológico de moscas blancas. En Jacas, J. A., Urbaneja, A. Control biológico de plagas agrícolas. Phytoma (ediciones.). España. páginas 239-253.
- CESAVEG. 2004. Campaña fitosanitaria contra mosca blanca *Bemisia tabaci* Gennadius y *Trialeurodes vaporariorum* Westwood. Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, México. 2 páginas.
- CIAD clima. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (<http://culiacan.ciad.edu.mx/mapa/>). Consultado el 30 de Febrero de 2016.
- CIAT.1986. Centro Internacional para la Agricultura tropical. Annual report. Cali, Colombia. 140 páginas.
- Chaubey R., Andrew R.J., Naveen N. C., Rajagopal R., Ahmad B., Ramamurthy V. V. 2015. Annal of the Entomological Society of America. 1-13.
- Chen G., Pan H., Xie W., Wang S., Wu Q., Fang Y., Shi X., Zhang Y. 2013. Virus infection of a weed increases vector attraction to and vector fitness on the weed. Entomology invasive species ecological epidemiology virus-host interactions. Scientific reports 3:2253.

- Chirinos D.T., F. Geraud-Pouey, G. Romay, C. Fernández, L. Bastidas, L. Flores y P. Güerere. 2014. Infección por begomovirus en plantas de tomate propagadas bajo diferentes condiciones de protección física de semilleros. *Bioagro* 26: 57-62.
- Cohen S., Duffus J., Liu H. 1992. A new *Bemisia tabaci* biotype in the southwestern united states and its role in silverleaf of squash and transmission of lettuce infectious yellows virus. *Phytopathology*, 82: 86-90.
- Costa H., Brown J.K. 1991. Variation in biological characteristics and in esterase patterns among populations of *Bemisia tabaci* (Genn.) and the association of one population with silverleaf symptom development. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 61: 211-219.
- Costa H., Ullman D., Johnson M., Tabashnick B. 1993. Association between *Bemisia tabaci* density and reduced growth, yellowing, and stem blanching off lettuce and kai choy. *Plant Disease*, 77:969-972.
- Dawson R.D., Hillen K.K., Whitworth T.L. 2005. Effects of experimental variation in temperature on larval densities of parasitic *Protocalliphora* (Diptera: Calliphoridae) in nests of tree swallows (Passeriformes: Hirudinidae). *Environmental Entomology* 34:563-568.
- De Barro P.J. 1995. *Bemisia tabaci* Biotype B: A Review of its Biology, Distribution and Control. Technical Paper No. 36 (second edition). Brisbane, Australia: CSIRO Division of Entomology.
- De Barro P.J., Driver F. 1997. Use of RAPD PCR to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Australian Journal of Entomology* 36:149-152.
- De Barro P.J., Trueman J.W.H., Frohlich D.R. 2005. *Bemisia argentifolii* (Hemiptera: Aleyrodidae) is a race of *B. tabaci*: the molecular genetic differentiation of *B. tabaci* populations around the world. *Bulletin of Entomological Research* 95: 193–203.

- De Barro P., Bourne A. 2010. Ovipositional host choice by an invader accelerates displacement of its indigenous competitor. *Biological Invasions* 12:3013-3023.
- De Barro P.J., Liu S.S., Boykin L.M., Dinsdale A.B. 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Reviews of Entomology* 56: 1-19.
- De Barro P. J. 2012. The *Bemisia tabaci* species complex: questions to guide future research. *Journal of Integrative Agriculture* 11:187-196.
- De La Rúa P., J.L. Cenis, B. Simon, D. Cifuentes, C. Martínez-Mora. 2006. New insights into the mitochondrial phylogeny of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in the Mediterranean Basin. *J. Zoolog. Syst. Evol. Res.* 44: 25-33.
- D. Bosco, G. Mason, y G.P. Accotto. 2004. TYLCSV ADN, but not infectivity, can be transovarially inherited by the progeny of the whitefly vector *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Virology* 323 276–283.
- Díaz Plaza, R. Áviles Baeza, W.L. Peña Ramírez, R. Rivera Bustamante, R.F. 2002. Geminiviruses detected in habanero chilli pepper (capsicum Chinese Jacq.) In Yucatan Peninsula. Proceedings of the 16 th international pepper conference. Tampico, Tamaulipas, México. November 10-12.
- Díaz Plaza R. 2003. Distribución de geminivirus en la península de Yucatán y estrategias moleculares para su control. Tesis Doctoral. Cinvestav Irapuato, México. 145 p.
- Dong Y.C., Wang Z. J., Clarke A.R., Pereira R., Desneux N., Niu C.Y. 2013. Pupal diapause development and termination is driven by low temperatura chilling in *Bactrocera minax*. *Journal of pest science* 86: 429-436.
- Doyle J.J., y Doyle J.L. 1990. Isolation of plant ADN from fresh tissue. *BRL Focus* 12: 13–15.
- Faría A., Nava A. Venezuela. 2007. Detección por PCR de Begomovirus en el cultivo de tomate en las áreas productoras de tomate en los andes

- venezolanos. Revista de la Facultad de Agronomía Luz (Maracaibo Venezuela). 26: 179-195.
- Fauquet C.M., Stanley J. 2005. Revising the way we conceive and name viruses below the species level: a review of geminivirus taxonomy calls for new standardized isolate descriptors. *Archives of Virology* 150: 2151-79.
- Flores G. 2003. Evaluación de fracciones de extractos y de sustancias puras de origen vegetal como disuasivos o repelentes de adultos de *Bemisia tabaci*. Tesis de maestría de Costa Rica. Pag. 6-13
- G.H. Anfoka, M. Abhary, M.K. Nakhla. 2005. Molecular Identification Of Species Of The Tomato Yellow Leaf Curl Virus Complex In Jordan. *Journal of Plant Pathology* 87 (1), 65-70.
- Galina Rubinstein, Henryk Czosnek. 1997. Long-term association of tomato yellow leaf curl virus with its whitefly vector *Bemisia tabaci*: effect on the insect transmission capacity, longevity and fecundity. *Journal of General Virology* 78, 2683–2689.
- Garzón-Tiznado, J. A., Acosta García, G., Torres Pacheco, I., González Chavira, M., Rivera Bustamante, R. F., Maya Hernández, V., Guevara González, R. G. 2002. Presencia de los Geminivirus, Huasteco del Chile (PHV), Texano del Chile Variante Tamaulipas (TPVT), y Chino del Tomate (VCdT), en los Estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20: 45-52.
- Garzón-Tiznado J.A. 1995. Geminivirus involucrados en la enfermedad “Rizado amarillo” del cultivo del chile en el Sur de Tamaulipas. Caracterización molecular y distribución en México. Tesis de Doctorado. CINVESTAVIPN, Unidad Irapuato, Guanajuato, México. 96 p.
- Garzón-Tiznado J.A., Torres-Pacheco I., Ascencio-Ibañez J. T., Herrera-Estrella L., Rivera-Bustamante R. F. 1993. Inoculation of peppers with infectious clones of a new geminivirus by biolistic procedure. *Phytopathology* 83:514-521.

- Garzón-Tiznado J.A., Rivera Bustamante R., Herrera Estrella, L., Delgadillo Sánchez F., Pozo Campodónico O. 1989. Estudio preliminar sobre el “Rizado Amarillo “del Chile (*Capsicum annuum* L.) en sur de Tamaulipas: un geminivirus. *XII Congreso Nacional de la Soc. Mex. De Fitopatología*. Montecillo, Estado de México. Resúmenes pp: 16.
- Garzón-Tiznado J.A. 1987. Presencia de virus en los cultivos de chile (*Capsicum annuum* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en México. En: *Temas en Virología II*. Sociedad Mexicana de Fitopatología. pp.156-181.
- Gill R.J. 1990. The morphology of whiteflies. EN: Gerling, D. *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercept. Newcastle: 13-46.
- Gómez-Menor J. 1944. Aleyródicos de interés agrícola. *Boletín de Patología Vegetal de Entomología Agrícola* 13: 161-198.
- Greathead D.J., 1986. Parasitoids in classical biological control *Insect Parasitoids* (edited by J. K. Waage, D. Greathead), pages 290–318.
- Guiaro P., Beitia F., Cenis J. L. 1997. Biotype determination of Spanish populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bulletin of entomological research* 87(06):587-593.
- Guzmán, R.S.D. y col (1994). Control de plagas. Mosquita blanca de la hoja plateada. Guía para producción algodón en el valle de Mexicali B.C. y San Luis Rio Colorado, Son. INIFAP-CIRNO-CAE “Valle de Mexicali” B.C Norte. pp: 11.
- Harrison B.D. 1985. Advances in geminivirus research. *Annual Review of Phytopathology* 23:55-82
- Hazem S. 2013. Epidemiology of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* in the Northern Regions of the West Bank, Palestine. *The Open Agriculture Journal* 7: 80-85.
- Heydarnejad J., Keyvani N., Razavinejad S., Massumi, H., Varsani A. 2013. Fulfilling Koch’s postulates for beet curly top Iran virus and proposal for

- consideration of new genus in the family Geminiviridae. *Archive of Virology* 158:435–443.
- Hilje L., Lastra R., Zoebisch T., Calvo G., Segura I., Barrantes I., Alpizar D., Amado R. 1992. Las moscas blancas en Costa Rica. Memoria del Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas. 3- 5 de agosto de 1992. CATIE Turrialba, Costa Rica.
- Hilje L. 1996. Escritura de artículos científicos. *In* metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. L. Hilje (ed). Serie Materiales de Enseñanza No. 37. CATIE. Turrialba, Costa Rica. P. 51-59.
- Hilje, Stansly P. 2001. Manejo de la mosca blanca mediante coberturas vivas. Turrialba, C.R. CATIE. 6 p.
- Horowitz R., Kontsedalov S., Denholm I., Ishaaya I. 2002. Dynamics of insecticide resistance in *Bemisia tabaci*: a case study with the insect growth regulator pyriproxyfen. *Pest Management Science* 58:1096-1100.
- Horowitz R., Kontsedalov S., Khasdan V., Ishaaya I. 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and Their Relevance to Neonicotinoid and Pyriproxyfen Resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 58:216–225.
- Horowitz R., Denholm I., Morin S. 2007. Resistance to insecticides in the TYLCV vector, *Bemisia tabaci*. Springer Netherlands. p 305-325.
- Horowitz R. e Ishaaya I. 2014. Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance. *Pest Management Science* 70 (10).
- Hu J., De Barro P. J., Zhao H., Nardi F., Wang J., Liu S.S. 2011. An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasión of two alien whiteflies in China. *PLoS ONE*,6, e16061.
- ICTVdB. 2006. Taxonomy of Geminivirus The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2009>.

- INFOAGRO 2014. Métodos de control de la mosca blanca *B. tabaci*. Disponible en <http://www.infoagro.com/abonos/moscablanca.htm>. Consultado el 3 de Mayo de 2014.
- Inoue T. 2012. Effects of temperature on the development of overwintering immature stages of the near-threatened butterfly *Leptelina unicolor* (Bremer and Grey) (Lepidoptera: Hesperiiidae). *Entomological science* 15:180-188.
- Irac 2016. Comité de Acción contra la Resistencia a Insecticidas. Disponible <http://www.irac-online.org/modes-of-action/>. Consultado el 10 de Abril de 2016.
- ISHAAYA I., DEGHEELE D. 1997. Insecticides with novel modes of action: mechanisms and applications. Alemania Springer. 289 p.
- Jian-Ying Guo, Lin Cong, Fang-Hao Wan. 2013. Multiple generation effects of high temperature on the development and fecundity of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B. *Insect Science* 20, 541–549.
- Kang S., Ho K.Y., Jung L.H., Jun K.B., Jin L.K., Hyeock L.S. 2012. One step identification of B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* based on intron variation of carboxylesterase 2. *Journal of Asian and Pacific. Entomology*, 15: 383-388.
- King, A. B.; Saunders, J. L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Latina. Overseas Development Administration. Londres. 181 p.
- Koonin E.V., Ilyina T.V. 1992. Geminivirus replication proteins are related to prokaryotic plasmid rolling circle ADN replication initiator proteins. *Journal of General Virology*, 73. 2763-2766.
- Kostal V. 2006. Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology* 52: 113-127.
- Lastra R. 1993. Los geminivirus: un grupo de fitovirus con características especiales. In *Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América*

- Central y el Caribe. L. Hilje y O. Arboleda (eds.). Turrialba, C.R. CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 25, p. 16-19.
- Lazarowitz S. , Lazdin I. 1991. Infectivity and complete nucleotide sequence of the cloned genomic components of a bipartite squash leaf curl geminivirus with a broad host range phenotype. *Virology* 180:58-69.
- Lee W., Park J., Lee G.-S., Lee S., Akimoto S. 2013. Taxonomic Status of the *Bemisia tabaci* Complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and Reassessment of the Number of Its Constituent Species. *PLoS ONE*, 8(5): e63817. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0063817>.
- Liñan C. 1997. Farmacología vegetal. Ed. Agrotécnicas. S.L. España 1194 p.
- Liu S., Bedford I.D., Briddon R.W., Markham P.G., 1997. Efficient whitefly transmission of African cassava mosaic geminivirus requires sequences from both genomic components. *Journal of Virology* 78:1791-1794.
- Lopez-Ávila, A. 2004. Manejo integrado de moscas blancas. *Bemisia tabaci* y *Aleurotrachelus sociales*. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. Instituto Agropecuario Colombia ICA. 60 páginas.
- Lourdes Cervantes-Díaz, Emma Zavaleta-Mejía, Reina Isabel Rojas-Martínez, Iobana Alanís-Martínez, Daniel Leobardo Ochoa-Martínez, Ernestina Valadez-Moctezuma y Onécimo Grimaldo-Juárez. 2009. Detección de geminivirus asociados a la alstroemeria (*alstroemeria l.*) En Villa Guerrero, estado de México. *Interciencia*. Vol 34 N° 12. 0378-1844/09/12/903-06.
- Luna A.P., Morilla G., Voinnet O., Bejarano E.R. 2012. Functional analysis of gene-silencing suppressors from tomato yellow leaf curl disease viruses. *Mol Plant Microbe Interact* 25:1294–1306.
- Maiorano A., Bregaglio S., Donatelli M., Furmagalli D., Zucchini A. 2012. Comparison of modelling approaches to simulate the phenology of the European Corn Borer under future climate scenarios. *Ecological Modelling* 245: 65-74.

- Marshall K.E., Sinclair B.L. 2012. The impacts of repeated cold exposures of insects. *The journal of experimental Biology* 215:1607-1613.
- Marshall A.G. 1981. *The Ecology of Ectoparasitic Insects*. Academic Press, London, (UK).
- Martinez Y., I. Zbalgogezcoa, C. De Blas, F. Sánchez, E. Peralta, J. Romero, and F. Ponz. 1996. Geminiviruses associated with diseased tomatoes in Cuba. *J. Phytopathology*. 144: 277-279.
- Martínez-Zubiaur Y. 1998. Contribución al conocimiento de geminivirus que afectan el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en Cuba. Doctoral thesis, Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana.
- Medina-Ramos G., De la Torre-Almarán R., Bujanos-Muñiz R., Guevara-González R. G., Tierranegra-García N., Guevara-Olvera L., González Chavira M. M., Torres-Pacheco I. 2008. Co- transmission of pepper huasteco yellow virus and pepper Golden mosaic virus in chili pepper by *Bemisia tabaci* (Genn). *Journal of entomology* 5 (3): 176-184. ISSN 1812-5670.
- Mehta P., Wyman J.A, Nakhla M.K, Maxwell D.P. 1994. Transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economy Entomology* 87:1291-1297.
- Méndez L. J. Valenzuela G. P., Saturnino D. J., Perea A. L., Quintero Z. E., Ruelas A. R. D., Álvarez R. P., Leyva L. N. E. 2016. Virus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia tabaci*). En el caso del virus del enrollamiento de la hoja amarilla del tomate (TYLCV). *Fitopatología. Revista digital HortiCultivos*. Disponible online en: <http://horticultivos.com/virus-transmitidos-por-mosca-blanca-bemisia-tabaci/>. Consultado el 23 de Mayo de 2016.
- Merino S., Potti J. 1996. Weather dependent effects of nest ectoparasites on their brid hosts. *Ecografy* 19: 107-113.

- Montes H. S. 1991. Tomate de cáscara (*Physalis phyladelphica* Lam.), In: Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. pp. 251-259.
- Morales F. J., Anderson P. K. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminivirus in Latin America. Archives of Virology 146:415-441.
- Moriones E., J. Navas Castillo. 2000. *Tomato yellow leaf curl virus*, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. Virus Research- 71:123-134.
- Mound L. A., Halsey S. HY. 1978. Whitefly of the world. A systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. 340 pp. British Museum (Natural History) and Hohn Wiley and Sons, Chichester (Great Britain).
- Mound L. A. 1983. Biology and identity of whitefly vectors of plant pathogens. In: R. T. Plum and J. M. Thresh (eds). Plant virus epidemiology. The Spread and Control of Insect-borne Viruses. Pp 305-313. Blackwell Scientific Pub. Oxford, U. K.
- Muhammad Ahmad Zeshan, Muhammad Aslam Khan, Safdar Ali and Muhammad Arshad. 2015. Correlation of Conducive Environmental Conditions for the Development of Whitefly, *Bemisia tabaci* Population in Different Tomato Genotypes. Pakistan J. Zool., vol. 47(6), pp. 1511-1515.
- Mulder R., Gijswijt MJ. 1973. The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition. Pestic. Sci. 4: 737-745.
- Muniyappa V. 1980. Whiteflies. In: K.F Harris, K. Maramorosh (editions.) Vectors of plant pathogens. Academic Press, New York. pp 39-85.
- Muñiz M., G. Nombela. 2001. Differential variation in development of the B- and Q- biotypes of *Bemisia tabaci* on sweet pepper *Capsicum annum* L. at constant temperatures. Environmental Entomology 30: 720-727.
- Muñiz M. 2000. Host suitability of two biotypes of *Bemisia tabaci* on some common weeds. Entomologia experimentalis et applicate 95:63-70.

- Nakhla M.K., Maxwell D.P. 1999. Epidemiology and management of tomato yellow leaf curl disease. In: Hadidi A., Khetarpal RK., Koganezawa H. (editions). Plant Virus Disease Control, pages 565-583. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA.
- Naresh J.S., Nene Y.L. 1980. Host range, host preference for oviposition and development and the dispersal of *Bemisia tabaci* (Gennadius), a vector of several plant viruses. Indian J Agric Sci 50 (8):620-623.
- Nauen R. 1995. Behaviour modifying effects of low systemic concentrations of imidacloprid on *Myzus persicae* with special reference to an antifeeding response. Pesticide Science 44(2):145–153.
- Nauen R., Stumpf N., Elbert A. 2002. Toxicological and mechanistic studies on neonicotinoid cross resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Pest Management Science 58 (9):868-75.
- Nava-Camberos U., Riley D.G., Harris M.K. 2001b. Temperature and host plant effects on development, survival, and fecundity of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). Environ. Entomol. 30, 55–63.
- Navas Castillo, J. S. Sánchez Campos, J.A. Díaz. 1999. Tomato yellow leaf curl virus is causing a novel disease of common bean and severe epidemics in tomato in Spain. Plant disease. 83:29-32.
- N. Loannou, N. Lordanou. 2015. Epidemiology of tomato yellow leaf curl virus in relation to the population density of its whitefly vector, *Bemisia tabaci* (GENNADIUS). Technical Bulletin 71. ISSN 0070-2315.
- Nuez, F. 1995. Las plagas en el cultivo del tomate. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. ISBN: 84-71114-549-9. México D.F. 797 p.
- Ofelia Yadira Lugo-Melchor, Roberto Guzmán Uriarte, Raymundo Saúl García Estrada y Josefina León Félix. 2011. Geminivirus Transmitidos por Mosca Blanca (*Bemisia tabaci*) en Tomate, en el Valle Agrícola de Culiacán, Sinaloa. Revista mexicana de fitopatología 29:109-118.

- Oliveira M. R. V., Henneberry T. J., Anderson P. 2001. History, current status, and collaborative research projects for *B. tabaci*. *Crop Protection* 20: 709-723.
- Ostfeld R. S., G. E. Glass, F. Keesing. 2005. Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *Trends in Ecology and Evolution* 20:328–336.
- Pakkianathan B. C., Kontsedalov S., Lebedev G., Mahadav A., Zeidan M., Czosnek H., Ghanima M. 1991. Replication of Tomato yellow leaf curl virus in its whitefly vector *Bemisia tabaci*. *Journal of Virology, American Society for Microbiology* 89(19).
- Palumbo, J.C.; Horowitz, A.R.; Prabhaker N. 2001. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20:739-765 p.
- Pan H., Chu D., Yan W., Su Q., Liu B., Wang S, Wu Q., Xie We, Jiao X., Rumei L., Yang N., Yang Xin, Xu B., Brown J. K., Zhou X., Zhang Y. 2012. Rapid spread of Tomato Yellow Leaf Curl Virus in China is Aided Differentially by Two Invasive Whiteflies. *Plos One* 7 (4): e34817.
- Pan H., Chu D., Ge D., Wang S., Wu Q., Xie W., Jiao X., Liu B., Yang X., Yang N., Su Q., Xu B., Zhang Y. 2011. Further spread of and domination by *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype Q on field crops in China. *Journal of economic entomology*, 104(3):978-985. Entomological society of America.
- Petavy G., David J.R., Gilbert P., Moreteau B. 2001. Viability and rate of development at different temperatures in *Drosophila*: a comparison of constant and alternating thermal regimes. *Journal of thermal biology* 26:29-39.
- Perring T.M., A. D. Cooper, R. J. Rodriguer, C. A. Farrar and T. S. Bellows. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science (Wash. D. C.)* 259: 74-77.
- Perring T. M. 1996. Biological Differences of two Species of *Bemisia* that Contribute to Adaptive Advantage. En: *Bemisia* 1995 Taxonomy, Biology,

- Damage, Control and Management, Gerling, D. and R.T. Mayer (Eds.). Intercept Ltd. andover, Hants, UK., ISBN: 1898298335, pp: 3-16.
- Perring T.M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. Crop Protection 20: 725-737.
- Picó B., Díaz M.J., Nuez F. 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The *Tomato yellow leaf curl virus* a review. Sci. Horticulture.67:151–196.
- Polston J., D.Bois C. Serra, S. Concepcion. 1994. First report of a tomato yellow leaf curl-like geminivirus in the western Hemisphere. Plant disease. 78: 831.
- Polston J.E., Anderson P.K. 1997. The emergences of whitefly transmitted geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. Plant Disease 81:1358-1369.
- Polston J., Mc Govern R. 1999. Introduction of *tomato yellow leaf curl virus* in Florida and implications for the spread of this and other geminivirus of tomato. Plant Disease 83(11):984-988.
- Powell D. A., Bellows T.S, JR. 1992. Development and reproduction of two populations of *Eretmocerus* species (Hymenoptera: Aphelinidae) on *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Environmental. Entomology 21(3):651-658.
- Pusag J.C.A., Hemayet J. S.M., Kwan-Suk L., Sukchan L., Kyeong-Yeoll L. 2012. Upregulation of temperature susceptibility in *Bemisia tabaci* upon acquisition of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). Journal of Insect Physiology 58:1343-1348.
- Quaintance A.L., Baker A.C. 1914. Classification of the Aleyrodidae Part II. Technical Series, United States Department of Agriculture Bureau of Entomology 27: 95-109 (99).
- Quiñonez M., D. Fonseca Y Martínez, G. Accotto. 2001. First report of tomato yellow leaf curl virus infecting pepper plants in Cuba. Plant Disease. 86: 73.

- Radmacher S., Strohm E. 2011. Effect of constant and fluctuating temperatures on the development of the solitary bee *Osmia bicornis* (Hymenoptera: Megachilidae). *Apidologie* 42:711-720.
- Ramos P.L., Guerra O., Dorestes V., Ramírez N., Rivera Bustamante, R.F. Oramas P. 1996. Detection of TYLCV in Cuba. *Plant disease*. 80:1208.
- Ramos P. 2004. Identificación y caracterización biológica y molecular de una nueva especie de Begomovirus bipartito: Tomato mottle taino virus [Tesis de Doctorado]. La Habana: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. 140 p.
- Rapisarda C. 1990. *Bemisia tabaci* is the vector of TYLCV in Sicilia. *Informatore Fitopatologico* 40 (6): 27–31.
- Ratte H.T. 1984. Temperature and insect development. En: Hoffmann, K. H. (ed). *Environmental physiology and biochemistry of insects*, pp 33-66.
- Rauch N., R. Nauen. 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera:Aleyrodidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 54: 165-176.
- Razavinejad S., Heydarnejad J. 2013. Transmission and natural hosts of Turnip Curly Top Virus. *Journal of Plant Pathology*. Vol (49), 1:27-28.
- Romay G., F. Geraud-Pouey, Chirinos D.T, Morales F., Herrera E., Fernández C., Ana K. Martínez. 2010. Transmisión del Tomato Venezuela Virus por *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), en Maracaibo, Venezuela. *Pest Management. Neotropical Entomology*. 39(2):266-274.
- Rosset P. M. 1986. Ecological and economic aspects of tomatoes in Central América. 128 pp.
- Ruelas R.D. 2007. Variabilidad genética de begomovirus en soya y malezas en Sinaloa (Tesis de Maestría). Guasave, Sinaloa: CIDIIR. 88 p.
- SAEPI. 2009, 2014. Mosca blanca. Disponible en <http://www.saepi.ual.es/saepi/tomate/moscablanca/docs/mbbemisia.htm>. Consultado en agosto de 2013.

- Saikia A. K., Muniyappa V. 1989. Epidemiology and control of tomato leaf curl virus in southern India. *Tropical agricultura* 66 (4). Pp. 350-354.
- Salati R., Nahkla M.K., Rojas M.R., Guzman P., Jaquez J., Maxwell D.P., Gilbertson R.L. 2002. *Tomato yellow leaf curl virus* in the Dominican Republic: Characterization of an infectious clone, virus monitoring in whiteflies, and identification of reservoir hosts. *Phytopathology* 92: 487-496.
- Sánchez J.M., Garijo C., García E.J. 1991. Moscas blancas. En "Plagas de tomate: Bases para el control integrado". M.A.P.A. Secretaría General Técnica. Madrid. Página 37-52.
- Schuster D.J., Mueller T.F., Kring J., Price J. 1990. Relationship of the sweetpotato whitefly to a new tomato fruit disorder in Florida. *Hort Science* 25(12):1618-1620.
- Secker A.E., Bedford I.A., Markham P.G. y William M. E. C. 1998. Squash, un indicador de campo confiable para detectar la presencia de biotipo B de la mosca blanca del tabaco, *Bemisia tabaci*. Conferencia de Protección de Brighton Crop: Plagas y Enfermedades 3:837-842.
- Sharpe P.J.H., Demichele D.W. 1977. Reaction kinetics of poikilotherm development. *Journal of Theoretical Biology* 64: 649-670.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2014. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/>. Consultado el 03 de Noviembre de 2015.
- SIAP SAGARPA (2016). <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. Consultado el 11 de marzo de 2016.
- Sponagel W.K, Funez R.M. 1994. Estrategias probadas de manejo del complejo fitosanitario mosca blanca-geminivirus en la producción de tomate. Manual de recomendaciones. La Lima, HO, Fundación Hondureña de Investigación Agrícola. Página. 1-6.
- Tauber M.J., Tauber C.A., Masaki S. 1986. Seasonal Adaptations of insects. New York. Oxford University Press. Viii, 411 pages.

- Thomas M.B., Blanford S. 2003. Thermal biology in insect-parasite interactions. *Trends in Ecology and Evolution* 18:344-350.
- Torres-Pacheco I., Garzón-Tiznado J. A., Brown J. K., Becerra-Flora A., Rivera-Bustamante R.F. 1996. Detection and distribution of geminivirus in Mexico and the southern united states. *Phytopathology* 86:1186-1192.
- Vasani A., Navas-Castillo J., Moriones E., Hernández-Zepeda C., Idris A., Brown J. K., Murilo Zerbini F., Martin D. P. 2014. Establishment of three new genera in the family Geminiviridae: Becurtovirus, Eragrovirus and turncurtovirus. *Archive of virology* 8:2193-203.
- Van Lenteren J. C., L. P. J. J. Noldus. 1990. Whitefly-Plant relationships: Behavioral and Ecological Aspects. *In Whiteflies: their Bionomics. Pest Status and Management*. Pp. 47-89.
- Vazquez L.L., Murguido C., Elizondo A.I., Elósegui O. y Morales F. 2007. Control biológico de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. In: Vazquez, L. L., editor. Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical. Pub CIAT No. 355.
- Vedemécum Agrario. 2012. Revista El ingeniero agrónomo. Lima-Perú.
- Visser M. E., Marvelde L.T., Shaper S. V., Dawson A., Webber S., Husby A. 2010. Seasonal timing in a warming world. BOU Proceedings- climate change and birds. <https://www.bou.org.uk/bouproc-net/ccb/visser-et-al.pdf>
- Wang B., Li F, Huang C., Yang X., Qian Y., Xie Y., Zhou X. 2014. V2 of tomato yellow leaf curl virus can suppress methylation mediated transcriptional gene silencing in plants. *J Gen Virol* 95:225–230.
- Who/Cds/WHOPES/2001. 2 (2001). English only. Distr. General. Report of the Fourth Whopes Working Group Meeting. Who/HQ, Geneva. 4-5 December 2000. Review of: IR3535; KBR3023; (RS)-Methoprene 20% EC, Pyriproxifen 0.5 % GR; and lambdacyhalothrin 2.5 % CS. Pag. 50:66.
- Who/Hse/Amr. 2008. English only. Pyriproxifen in driking-water: use for vector control in drinking-water sources and containers background document

for development of WHO. Guidelines for drinking-water quality. World health organization.

- Wu J., F. Dai, X. Zhou. 2006. First report of *Tomato yellow leaf curl virus* in China. *Plant Disease*. 90:1359.
- Yakomi R.K., Hoelmer K. A., Osborne L.S. 1990. Relationships between the sweetpotato whitefly and the squash silverleaf disorder. *Phytopathology* 80: 895-900.
- Yazdi H. R. B., Heydarnejad J., Massumi H. 2008. 'Genome Characterization and Genetic Diversity of Beet Curly Top Iran Virus: A Geminivirus with a Novel Nonanucleotide', *Virus Genes* 36: 539–45.
- Zúñiga C., Ramírez P. 2002. Los geminivirus, patógenos de importancia mundial. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecológica (Costa Rica)*. No. 64. P 25 – 33.

Abreviaturas

<i>B.</i>	<i>Bemisia</i>
Genn.	Gennadius
%	Porcentaje
sp.	Especie
mm	Milímetro
nm	Nanómetro
g	Gramo
Kb	kilobase
ADN	Ácido desoxirribonucleico
nt	Nucleótido
etc.	Etcétera
ssADN	ADN de cadena simple
sdADN	ADN de cadena doble
km	Kilómetro
cm	Centímetro
FAO	Organización para la alimentación y la agricultura (del inglés, Food and Agriculture Organization)
WHO	Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES). Esquema de evaluación de Pesticidas
mg	Miligramo
Kg	Kilogramo
°C	Grado centígrado
mL	Mililitro
μL	Microlitro
HCl	Ácido clorhídrico
mM	Milimolar
M	Molar
pH	Potencial de Hidrógeno
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
NaCl	Cloruro de sodio
CTAB	Bromuro de cetiltrimetilamonio
β	Beta
min	Minuto
v/v	Volumen/volumen
<i>g</i>	Fuerza centrífuga relativa

p/v	Partes por volumen
dNTPs	Desoxirribonucleótidos
MgCl ₂	Cloruro de magnesio
pb	Pares de bases
s	Segundo (s)
μg	microgramo
h	Hora
V	Volt (s)
#	Número
ng	Nanogramo
α	Alfa (en estadística; nivel de confianza)