



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLE

PSEUDORECOMBINACIÓN DEL VIRUS DEL MOSAICO AMARILLO DE LA PAPA QUE INFECTA TOMATE CON BEGOMOVIRUS AISLADOS DE ARVENSES

Pseudorecombination of Potato Yellow Mosaic Virus with Begomoviruses Isolated from Weeds

Alexandra GARCÍA-TORRES¹ , Karina LÓPEZ-LÓPEZ¹ *, Juan Carlos VACA-VACA¹ 

¹ Grupo IPMA Interacción Planta Microorganismo Ambiente, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Carrera 32 # 12 - 00, Palmira, Colombia.

^a agarciat@unal.edu.co

^b klopezl@unal.edu.co

^c jcvacava@unal.edu.co

* For correspondence: klopezl@unal.edu.co

Recibido: 10 de octubre de 2021. **Revisado:** 28 de noviembre de 2022. **Aceptado:** 16 de febrero de 2023

Editor asociado: Mónica Navia-Urrutia

Citation/ citar este artículo como: García-Torres, A., López-López, K., y Vaca-Vaca, J. C. (2023). Pseudorecombinación del virus del mosaico amarillo de la papa que infecta tomate con begomovirus aislados de arveses. *Acta Biol Colomb*, 28(3), 460-471. <https://doi.org/10.15446/abc.v28n3.98952>

RESUMEN

En las infecciones mixtas entre begomovirus, comunes en regiones tropicales y subtropicales, eventos como transcomplementación y transreplicación pueden ocurrir. El objetivo de esta investigación fue evaluar la posibilidad de eventos asimétricos de transreplicación y transcomplementación entre el *Virus del mosaico amarillo de la papa* (PYMV) y tres begomovirus previamente aislados de arveses asociadas al cultivo de tomate: *Virus del mosaico dorado de croton* (CohGMV), *Virus del mosaico dorado de rhynchosia de Colombia* (RhGMCV) y el *Virus moteado de verbena* (VeMV). Para alcanzar este objetivo, se inocularon hojas de tomate con mezclas artificiales de componentes genómicos begomovirales pertenecientes a PYMV, CohGMV, RhGMCV o VeMV usando biobalística. Se analizaron las posibles interacciones entre los virus a nivel de replicación, movimiento y expresión de síntomas. Nuestros resultados mostraron complementación asimétrica a nivel de movimiento y replicación, además de eventos de transactivación heteróloga en infecciones mixtas entre PYMV con CohGMV, RhGMCV o VeMV. Para explicar la posible complementación asimétrica a nivel de movimiento y replicación entre estos begomovirus, se realizó un análisis bioinformático de los promotores virales de PYMV, CohGMV, RhGMCV y VeMV. Se identificaron similitudes en los elementos cis-regulatorios de las regiones analizadas entre los begomovirus estudiados en nuestro análisis. Los eventos de complementación asimétrica y transactivación observados bajo condiciones experimentales sugieren que, de presentarse infecciones mixtas bajo condiciones naturales en el campo, podrían potencialmente emergir nuevos pseudorecombinantes.

Palabras clave: biobalística, CLEs, geminivirus, iterones.

ABSTRACT

In mixed infections between begomoviruses, common in tropical and subtropical regions, events such as transcomplementation and transreplication can occur. The aim of this research was to evaluate the possibility of asymmetric transreplication and transcomplementation events between *Potato yellow mosaic virus* (PYMV) and three begomoviruses previously isolated from tomato crop-associated weeds: *Croton golden mosaic virus* (CohGMV), *Rhynchosia golden mosaic Colombia virus* (RhGMCV) and *Verbena mottle virus* (VeMV). To achieve this goal, tomato leaves were inoculated with artificial mixtures of genomic components from PYMV, CohGMV, RhGMCV, or VeMV by using biolistic. The possible interactions between the viruses at the level of replication, movement and symptom expression were analyzed. Our results showed asymmetric complementation at the level of movement and replication, as well as heterologous transactivation events in mixed infections between PYMV with CohGMV, RhGMCV, or VeMV. To explain the possible

asymmetrical complementation at the level of movement and replication between these begomoviruses, a bioinformatic analysis of the viral promoters of PYMV, CohGMV, RhGMCV and VeMV was performed. Similarities in cis-regulatory elements of the analyzed regions in the begomovirus studied were identified in our analysis. Asymmetrical complementation and transactivation events observed under experimental conditions suggest that if mixed infections occur under natural field conditions, new pseudorecombinants could emerge.

Keywords: biolistics, CLEs, geminivirus, iterons

INTRODUCCIÓN

Los virus son considerados uno de las principales limitantes en la productividad agrícola, ocasionando reducción en la producción o pérdidas totales de las cosechas (Hernández-Espinal et al., 2018). El tomate, *Solanum lycopersicum* (Solanaceae) es la hortaliza más difundida en el mundo y la de mayor valor económico. En el año 2017, el área cultivada de tomate en Colombia era de 7283 ha, con una producción de 183419 t (Agronet, s.f.). Aunque se ha presentado un aumento en el área cultivada y el rendimiento ha disminuido a través de los años en un 10 % aproximadamente, este sigue siendo un cultivo hortícola de mucha importancia e implementación. En Colombia, el departamento del Valle del Cauca ocupa el sexto lugar de producción a gran escala, agrupado en dos grandes áreas de ladera y zona plana, con una productividad de 20.83 t/ha (Agronet, s.f.).

En plantas cultivadas como el tomate, los virus representan una grave amenaza debido a que causan reducción en la productividad y en la calidad del fruto. En la última década se han reportado más de 136 especies de virus que afectan este cultivo, la mayoría de los cuales corresponden a las familias *Tospoviridae* (género *Orthotospovirus*), *Potyviridae* (género *Potyvirus*), *Bromoviridae* (género *Cucumovirus*), *Virgaviridae* (género *Tobamovirus*) y *Geminiviridae* (género *Begomovirus*) (Arnaud et al., 2007; Adams et al., 2009; Rojas et al., 2018). En Colombia se han reportado ocho géneros de virus afectando tomate, *Tobamovirus* (*Tobacco mosaic virus* -TMV y/o *Tomato mosaic virus* - ToMV), *Cucumovirus* (*Cucumber mosaic virus* -CMV), *Orthotospovirus* (*Tomato spotted wilt orthotospovirus* -TSWV), *Impatiens necrotic spot orthotospovirus* -INSV), *Torradovirus* (*Tomato torrado virus* - ToTV), *Crinivirus* (*Potato yellow vein virus* -PYVV), *Potyvirus* (*Pepper deforming mosaic virus* -PepDMV), *Nepovirus* (*Tobacco ringspot virus* -TRSV) y *Begomovirus* (PYMV) (Morales y Olaya, 2009; Betancour-Pérez, 2012; Vaca-Vaca et al., 2012; Verbeek y Dullemans, 2012; Jaramillo y Tamayo, 2013).

El género *Begomovirus* está compuesto mayoritariamente por virus bipartitas, es decir conformados por dos componentes genómicos de DNA de cadena sencilla circular denominados A y B. Cada uno de estos componentes genómicos tiene un tamaño aproximado de 2,6 - 2,8 kb (Lefkowitz et al., 2018; Fiallo-Olivé et al., 2021). Los *begomovirus* son transmitidos por el complejo de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) de manera circulativa no propagativa (Navas-Castillo et al., 2011; Rosen et al., 2015; Vinoth-Kumar y Shivaprasad,

2020), encontrándose no solo en las plantas cultivadas sino también en las plantas acompañantes o arvenses. Las arvenses se comportan como reservorios begomovirales que favorecen la aparición de nuevas variantes producto de mutaciones, recombinaciones, sinergismos, pseudorecombinaciones y transcomplementaciones entre los componentes virales presentes, las cuales pueden llegar a ser más virulentas que aquellos de los cuales son originarios (Padidam et al., 1999; Da Silva et al., 2011; Fondong, 2013; Hanley-Bowdoin et al., 2013; Khan et al., 2014; Beam y Ascencio-Ibañez, 2020; Butkovic y Gonzalez, 2022; Maliano et al., 2022). En Colombia se han reportado como reservorios de geminivirus las arvenses: *Ammannia coccinea* (Lythraceae), *Amaranthus dubius* (Amaranthaceae), *Caesalpinia* sp. (Fabaceae), *Capsicum rhomboideum* (Solanaceae), *Caperonia palustris* (Euphorbiaceae), *Croton hirtus* (Euphorbiaceae), *Desmodium tortuosum* (Fabaceae), *Desmodium intortum* (Fabaceae), *Eclipta prostrata* (Asteraceae), *Hybanthus attenuatus* (Violaceae), *Ipomoea tiliacea* (Convolvulaceae), *Lantana camara* (Verbenaceae), *Laportea estuans* (Urticaceae), *Melothria pendula* (Cucurbitaceae), *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), *Panicum polygonatum* (Poaceae), *Petiveria alliacea* (Phytolacaceae), *Plumbago* sp. (Plumbaginaceae), *Rhynchosia minima* (Fabaceae), *Rivina humilis* (Petiveraceae), *Synedrella nodiflora* (Asteraceae) y *Verbena* sp. (Verbenaceae) (López-López et al., 2012, 2014, 2022; Vaca-Vaca et al., 2011, 2019, 2020).

En el Valle del Cauca, el tomate es un hospedero natural del begomovirus PYMV (Betancour-Pérez, 2012) y a sus alrededores se han encontrado arvenses que hospedan otros begomovirus como *Virus del mosaico dorado de croton* (CohGMV) (Vaca-Vaca et al., 2018), *Virus del mosaico dorado de rhynchosia de Colombia* (RhGMCV) (López-López et al., 2019) y *Virus moteado de verbena* (VeMV) (Jara-Tejada, 2016). Debido a la posibilidad de que ocurran infecciones mixtas, el objetivo de este trabajo fue evaluar la viabilidad de eventos asimétricos de transreplicación y transcomplementación entre PYMV y CohGMV, RhGMCV y VeMV.

MATERIALES Y MÉTODOS

CLONAS BEGOMOVIRALES

Los begomovirus utilizados en este estudio son clones virales obtenidos en trabajos previos realizados por el grupo de investigación Interacción Planta Microorganismo Ambiente (IPMA). Los clones PYMV-A y PYMV-B, portan

respectivamente los componentes A y B de PYMV aislado de tomate (Betancour-Pérez, 2012). El clon AT19 porta el componente B de VeMV aislado de *Verbena* sp. (Jara-Tejada, 2016). El clon AT20 porta el componente A de CohGMV aislado de *C. hirtus* (Vaca-Vaca et al., 2018). El clon AT35 porta el componente A de RhGMCV aislado de *R. minima* (López-López et al., 2019).

Los clones begomovirales que se encontraban almacenados en glicerol a -20 °C fueron activados en LB sólido con ampicilina (100 mg/l). Se realizó la extracción del ADN plasmídico utilizando el Plasmid Midi Kit (Qiagen®), de acuerdo con la metodología propuesta por el fabricante. La concentración y la pureza del ADN plasmídico obtenido se visualizó por electroforesis en geles de agarosa al 0.8 %.

OBTENCIÓN DE PLÁNTULAS DE TOMATE *SOLANUM LYCOPERSICUM* (SOLANACEAE) VAR. SANTA CLARA

Transcurridos 15 días después de la germinación, las plántulas de tomate (variedad Santa Clara) con cuatro hojas verdaderas fueron trasplantadas a materas con suelo estéril, con capacidad de 1 Kg. Las plántulas se protegieron en jaulas con malla anti-trips, ubicadas en la casa de malla de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Siete días después de trasplantadas las plantas fueron fertilizadas con 15-15-15 complejo N P K (CENAGRO®).

DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se realizó bajo condiciones de invernadero. Se empleó un diseño experimental completamente al azar (CA) con diez repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue cada planta y los tratamientos (combinaciones) se describen en la Tabla 1. Se evaluaron las variables: capacidad de transreplicación y transcomplementación entre componentes virales, y presencia de síntomas virales. La capacidad de transcomplementación y transreplicación se determinó mediante PCR, donde se detectaron los componentes genómicos virales inoculados en hojas nuevas (apicales) y hojas bajas de cada planta inoculada, transcurridos 21 y 45 días post-inoculación (dpi).

PREPARACIÓN DE MICROCARRIERS Y CARTUCHOS CON EL DNA BEGOMOVIRAL

Microcarriers de tungsteno de 1.7 µm de diámetro fueron cubiertos de ADN viral de cada una de las combinaciones realizadas con los virus de interés (ADN A + ADN B de los virus utilizados, Tabla 1), siguiendo el protocolo reportado por el fabricante BioRad®. Se adicionaron aproximadamente 2 µg de ADN viral por cartucho a preparar. Los cartuchos preparados se almacenaron a 4 °C hasta el día del ensayo de inoculación por biobalística.

INOCULACIÓN DE LAS PLANTAS DE TOMATE

CON LAS DIFERENTES COMBINACIONES DE LOS COMPONENTES VIRALES A Y B

Las plantas de tomate var. Santa Clara fueron inoculadas con las diferentes combinaciones virales (Tabla 1), mediante la técnica de biobalística de baja presión Helios Gene Gun System (BioRad®), siguiendo el protocolo previamente estandarizado por el grupo IPMA para inocular virus en plantas de tomate (López-López et al., 2013). Se tuvo en cuenta que estas fueran uniformes en color y tamaño, y que todas tuvieran de cinco a seis hojas verdaderas. Para la inoculación se agruparon todas las hojas de las plantas formando un buqué, para asegurar que al realizar el disparo las partículas virales tuvieran mayor área de contacto con el tejido vegetal. Posterior a la inoculación, las plantas fueron regresadas al invernadero y el desarrollo de síntomas se evaluó semanalmente hasta 45 dpi con el fin de determinar la incidencia y severidad de los síntomas. Pasados 21 dpi se realizó el primer muestreo al azar de cinco plantas de tomate inoculadas con cada una de las combinaciones, donde se cosecharon las hojas apicales (hojas nuevas) y hojas bajas. El segundo muestreo se realizó a los 45 dpi, colectando el mismo tipo de muestras en las cinco plantas restantes de cada tratamiento.

DETECCIÓN MEDIANTE PCR DE COMPONENTES GEMINIVIRALES INOCULADOS

La capacidad de transcomplementación y transreplicación se detectó mediante PCR, amplificando los componentes A y B en las hojas apicales (hojas nuevas) y hojas bajas de cada planta inoculada después de 21 y 45 dpi. Se colectaron hojas apicales y hojas bajas de manera independiente de cada unidad experimental en los tiempos establecidos y se maceraron en nitrógeno líquido. La extracción del ADN genómico total se realizó utilizando el método reportado por Dellaporta et al. (1983). La cantidad y calidad del ADN genómico extraído se evaluó mediante electroforesis en geles de agarosa 0,8 % (p/v). La calidad de ADN purificado se verificó mediante PCR, empleando los cebadores 18s-Fwd / 18S-Rev (Álvarez-Viveros et al., 2013) que amplifican un fragmento de 480 nt del gen ribosomal 18S (datos no mostrados). Para detectar el componente genómico A inoculado se utilizaron los cebadores MP82 y MP16, que amplifican un fragmento de ~500 pb (Umaharan et al., 1998). También se diseñaron y sintetizaron cebadores específicos para la detección del componente B del virus moteado de verbena (VeMV), denominados AT19B-R (5'-CTT-CTC-CGC-TTC-CTT-3') y AT19B-F (5'-CGA-TTC-TCC-AGG-CCT-TAT-T-3'), los cuales amplifican un fragmento de 320 pb. Estos cebadores se diseñaron en el software CLC Main Workbench v7 (Qiagen®) utilizando la secuencia del genoma completo del virus (Número GenBank KX156612.1).

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LA REGIÓN PROMOTORA DE GENES BEGOMOVIRALES

La secuencia de los genomas begomovirales utilizados en esta investigación se obtuvieron de la base de datos GenBank: componente A (accesión JQ045705.1) y B (accesión JQ045706.1) de PYMV, componente A de RhGMCV (accesión KX216480.1), componente A de CohGMV (accesión KX156613.1) y componente B de VeMV (accesión KX156612.1). Se extrajo la secuencia de nucleótidos correspondiente a la región intergénica que incluye los promotores de los genes Rep (proteína asociada a la replicación) y Cp (proteína de la cápside), así como el elemento nonanucleótido conservado para el componente A. Para el componente B se extrajo la secuencia de nucleótidos de la región promotora de los genes Mp (proteína de movimiento) y NSP (proteína de transporte de ADN viral del núcleo al citoplasma), incluido el elemento nonanucleótido conservado. Utilizando el software CLC Main Workbench v7 (Qiagen®) se identificaron elementos *cis* regulatorios que participan en eventos de transcomplementación y transreplicación entre begomovirus (CLES e interones).

RESULTADOS

Detección del componente genómico A en hojas de tomate inoculadas con las diferentes combinaciones begomovirales

El componente genómico A de los virus inoculados por biobalística se detectó por PCR en las hojas nuevas (apicales) de tomate a los 21 y 45 dpi (Figs. 1 y 2). Para la combinación PYMV A + B, el componente A viral se detectó en cuatro de las cinco plantas inoculadas a los 21 dpi (Fig. 1a) y en tres de tres plantas evaluadas a los 45 dpi (Fig. 1c). A los 45 dpi solo fue posible evaluar tres plantas, debido a que dos no sobrevivieron. En la combinación PYMV-A + VeMV-B, cuatro de las cinco plantas inoculadas fueron positivas para el componente A viral a los 21 (Fig. 1a) y 45 dpi (Fig. 1c). En la combinación CohGMV-A + PYMV-B, el componente genético A de CohGMV se detectó en las hojas apicales nuevas del total de plantas inoculadas a los 21 (Fig. 1a) y 45 dpi (Fig. 1c). En la combinación CohGMV-A + VeMV-B, CohGMV-A se detectó en las cinco plantas inoculadas a los 21 dpi (Fig. 1a) y en cuatro de las cinco plantas a los 45 dpi. Finalmente, en la combinación de los componentes genómicos RhGMCV-A + VeMV-B, RhGMCV-A se detectó en cuatro de las cuatro plantas evaluadas a los 21 dpi (Fig. 2a), y en las cinco plantas evaluadas a los 45 dpi (Fig. 2b). A los 21 dpi solo fue posible evaluar cuatro plantas, debido a que una de las muestras se dañó durante el proceso de análisis en el laboratorio. Estos resultados muestran que, independientemente de las combinaciones evaluadas, los virus se movieron desde las hojas bajas inoculadas hacia

las hojas apicales nuevas no inoculadas. La detección del componente A de los virus en las hojas bajas confirmó que todos los ensayos de inoculación fueron exitosos (Fig. 1b). De igual forma, no se detectaron componentes genómicos en las plantas no inoculadas (mock), indicando que no hubo contaminación externa de begomovirus.

Detección del componente genómico B de VeMV en hojas de tomate inoculadas con las diferentes combinaciones begomovirales.

Como se observa en la (Fig. 3), el fragmento esperado de 320 pb correspondiente a VeMV-B fue amplificado en las hojas apicales y bajas de las plantas inoculadas con todas las combinaciones evaluadas. La detección del componente geminiviral B del VeMV indica que éste fue capaz de transcomplementar a nivel del movimiento a los diferentes componentes genómicos A con los cuales fue co-inoculado, para que este último pudiera alcanzar nuevos tejidos de la planta (Figs. 1 y 2).

Síntomas en hojas de tomate inoculadas con las diferentes combinaciones begomovirales

En el haz de las hojas de algunas de las plantas inoculadas con las combinaciones begomovirales se observaron leves deformaciones (abultamientos) 21 dpi (Fig. 4; Tabla 1). Las plantas inoculadas con las combinaciones CohGMV-A + PYMV-B, CohGMV-A + VeMV-B y PYMV-A + VeMV-B solo mostraron abultamientos en las hojas apicales, mientras que las plantas inoculadas con la combinación PYMV-A + B también presentaron zonas cloróticas en el haz de algunas hojas. A los 45 dpi se observaron síntomas como deformaciones, abultamientos y epinastias leves en las plantas inoculadas con las combinaciones mencionadas previamente. El síntoma más frecuente observado en las hojas apicales fue la presencia de un borde foliar ondulado, en contraste con el borde foliar aserrado que se observó en las plantas mock (Fig. 4f). Esta deformación de las hojas (borde ondulado) se presentó principalmente en las combinaciones que portaban el componente A de PYMV (Fig. 4b - 4e). No se evidenciaron síntomas en las plantas inoculadas con la combinación RhGMCV-A + VeMV-B, ni a los 21 dpi ni a los 45 dpi (Fig. 4c; Tabla 1).

Ánálisis bioinformático de elementos *cis* regulatorios presentes en PYMV, RhGMCV, CohGMV y VeMV

En la (Fig. 5) se presenta el análisis bioinformático realizado a la región promotora de los genes Rep y Cp del componente A; y Mp y NSP del componente B de los begomovirus evaluados en esta investigación. El componente genómico RhGMCV-A posee dos elementos conservados tardíos (CLEs, *Conserved Late Elements*) en secuencia directa. El primero, GTGGTCCC, abarca las posiciones 32 a 39 del genoma y está ubicado 124 nt arriba del codón de

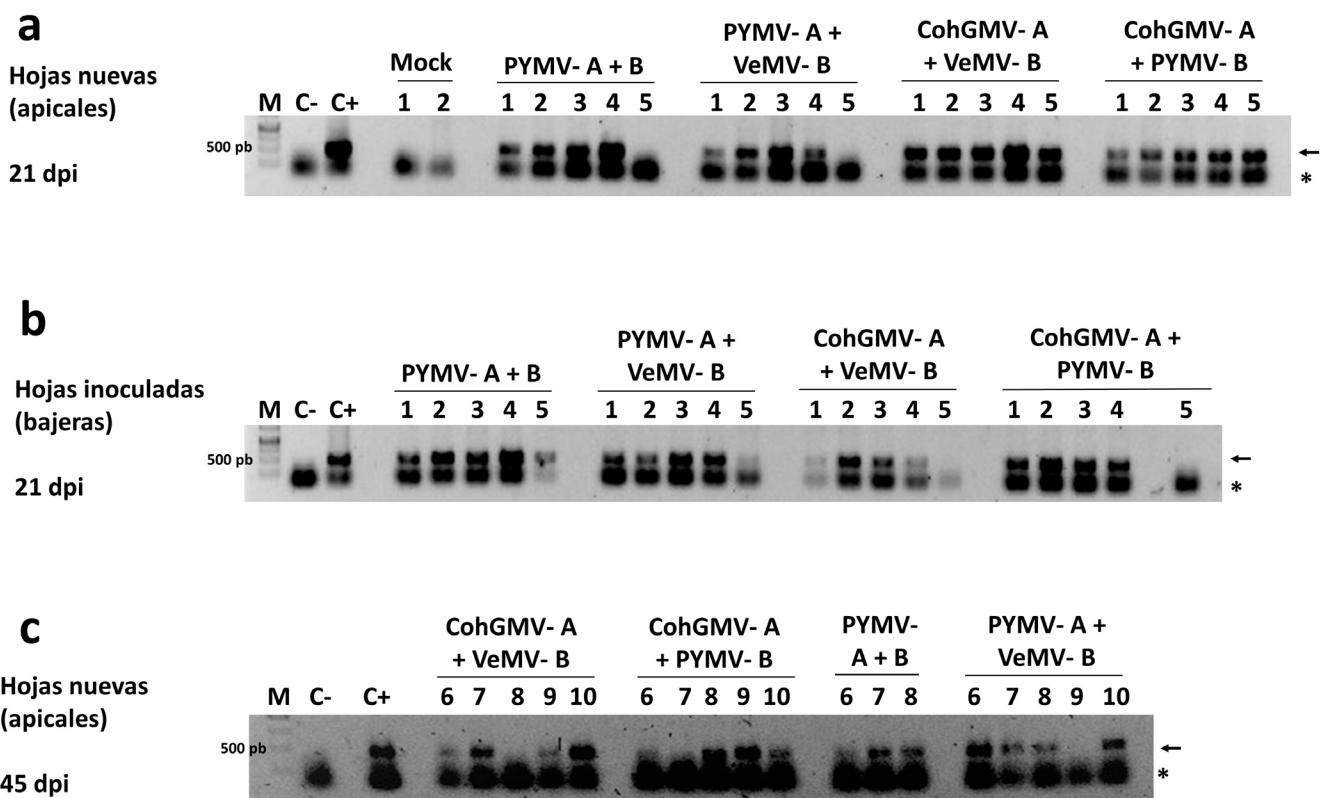


Fig. 1 Evaluación de transcomplementación mediante la detección por PCR del componente genómico A (ADN-A) de PYMV, VeMV-B y CohGMV. **a)** Detección del genoma A en hojas apicales de tomate colectadas 21 días post inoculación (dpi). **b)** Detección del genoma A en las hojas bajas inoculadas, 21 dpi. **c)** Detección del genoma A en hojas apicales de tomate, 45 dpi. M: marcador de peso molecular [Gene Ruler™ 1Kb DNA Lader (Thermo Scientific®)]; C-: control negativo de la reacción de PCR (agua); C+: control positivo de la reacción de PCR (PYMV-A clonado pBS); Mock: ADN de plantas de tomate sin inocular. Los números (1 a 10) representan las diferentes plantas de tomate evaluadas. El asterisco indica el exceso de primer en la reacción de PCR. La flecha indica el tamaño de producto de PCR esperado (fragmento de 0,4 kb).

inicio de Cp. El segundo, GTGGGCCT, se encuentra en las posiciones 116 a 123 del genoma viral y está a 47 nt del codón de inicio de Cp. Los CLEs se han definido como elementos cis regulatorios implicados en los procesos de transactivación de Cp y NSP (Argüello-Astorga et al., 1994; Fondong, 2013). Por ello se considera que las secuencias octaméricas GTGGCCCC, TGGTCCAC y GTGGTCCC son los blancos funcionales de TrAP para mediar los procesos de transactivación y transcomplementación (Ruiz-Medrano et al., 1999; Hanley-Bowdoin et al., 2013). También se identificaron seis iterones organizados de la siguiente manera: tres de secuencias TGGAGTCC se situaron de manera directa antes del arreglo tallo asa, y un tercero después de este arreglo. Los otros tres iterones invertidos, orientados hacia Rep, presentaron la secuencia GGACTCCA. Esta distribución de iterones corresponde con el clado del Virus del encrespamiento de la hoja del squash (SqLCV), el cual

posee dicha distribución y es predominante en la zona del Caribe y Centroamérica (Argüello-Astorga et al., 1994).

En el componente genómico de CohGMV-A se identificó un único CLE en sentido directo, con la secuencia GTGGGCCA, y ubicado cerca al inicio de transcripción de Cp. Con respecto a los iterones se encontraron tres: uno en sentido directo (CTCCAAT) próximo al sitio de inicio de transcripción de la proteína Rep, y dos en sentido invertido (ATTGGAGT) a 55 nt de la estructura de tallo y asa (Fig. 5).

El componente genómico A de PYMV presenta un CLE en sentido invertido, TGGCCCAC, en la posición 141 del genoma viral cercano al ATG de Cp. En el promotor del gen Rep se identificaron cuatro iterones: dos en sentido directo (TTCCCCCCT/G) cercanos al ATG de Rep, y dos en sentido invertido (TGGGGGAA) próximos a la estructura de tallo y asa. En el componente genómico B de PYMV se encontraron cuatro iterones idénticos en secuencia y sentido a los previamente observados en el promotor del gen de Rep. Se

Tabla 1. Consolidado de resultados obtenidos con las diferentes combinaciones de los componentes genómicos A y B de los begomovirus evaluados. Se evaluó la presencia de síntomas y la detección por PCR de los componentes virales a los 21 y 45 días post-inoculación (dpi). A los 21 dpi se incluyen los síntomas observados en las diez plantas inoculadas, cinco de las cuales fueron colectadas para la detección del virus inoculado. A los 45 dpi se evaluaron y colectaron las cinco plantas restantes.

Combinación de begomovirus	Síntomas	Plantas con síntomas	Plantas positivas por PCR	Plantas con síntomas	Plantas positivas por PCR
		21 dpi	45 dpi		
RhGMCV-A + VeMV-B	Ninguno	0/10	4/4	0/5	4/5
CohGMV -A + PYMV-B	Abultamientos y deformación de hojas	2/10	5/5	4/5	5/5
CohGMV-A + VeMV-B	Abultamientos y deformación de hojas	1/10	5/5	4/5	4/5
PYMV-A + VeMV -B	Abultamientos y deformación de hojas (borde ondulado)	1/10	4/5	4/5	2/5
PYMV-A + B (Control +)	Abultamientos y deformación de hojas (borde ondulado)	1/10	4/5	2/3	3/3
Mock (Control -)	Ninguno	0/5	0/5	0/5	0/5

identificó un único CLE, con motivo TGGACCAC, en sentido invertido a 137 nt del ATG de NSP (Fig. 5).

Finalmente, en el componente genómico B de VeMV se identificó un CLE con la secuencia GTGGCCCC, localizado 355 nt río arriba del codón de inicio de NSP, en las posiciones 61 a 68 (Fig. 5). También se identificaron tres iterones en el promotor de Mp: dos en sentido directo, con las secuencias GGGGAAC y GGGGTAC, y un tercer iterón en sentido invertido con la secuencia GTTCCCCC. Con base en la orientación y número, los iterones identificados en PYMV, CohGMV y VeMV se asemejan a aquellos presentes en los begomovirus que pertenecen al Clado del *Virus del mosaico del abutilón* (AbMV). Este arreglo de iterones también se ha visualizado en el *Virus del mosaico clorótico del frijol* (BChMV), el *Virus de la distorsión de la hoja de maracuyá* (PLDV) y el *Virus del mosaico enano del frijol* (BDMV) (Jara-Tejada, 2016).

DISCUSIÓN

Los elementos de secuencia tardíos conservados (CLEs) identificados en los promotores de los genes Cp y NSP de los Geminivirus (Argüello-Astorga et al., 1994) han sido previamente reconocidos como el blanco de la acción en “trans” de la proteína transactivadora TrAP (Ruiz-Medrano et al., 1999; Ramos et al., 2004; Borah et al., 2016; Guerrero et al., 2020). Por ejemplo, la expresión del gen NSP, que codifica para una proteína que media el movimiento de los begomovirus en la planta a corta distancia, es regulada positivamente por TrAP (Cantú-Iris et al., 2019; Guerrero et al., 2020). La identificación de CLEs en la región promotora de los genes Cp y NSP de los begomovirus evaluados en este estudio permitiría explicar el fenómeno de transcomplementación a nivel de movimiento sistémico entre los diferentes pseudorecombinantes begomovirales que se evidenció en nuestros resultados. La detección por PCR de los componentes A en las hojas nuevas (no inoculadas) próximas al meristemo apical demostró que la proteína TrAP, producto del gen AC2 presente en el componente

genómico A de RhGMCV, PYMV y CohGMV, fue capaz de transactivar heterólogamente la transcripción de los genes de movimiento (NSP) presentes en los componentes genómicos B de los begomovirus VeMV y PYMV.

Nuestros resultados coinciden con observaciones previas que indican que la función transactivadora de la proteína TrAP, principalmente sobre los genes de expresión tardía (Cp y NSP), es intercambiable entre geminivirus incluso si estos son lejanamente relacionados a nivel filogenético (Sunter et al. 1994, Sunter y Bisaro, 2003; Lacatus y Sunter, 2008; Berger y Sunter, 2013; Guerrero et al., 2020). Los resultados de este estudio son similares a los obtenidos con el begomovirus *African cassava mosaic virus* (ACMV), el cual se trans-complementa a nivel de movimiento con otros begomovirus como el *tomato golden mosaic virus* (TGMV), y el virus AbMV (Frischmuth et al. 1993; Hou y Gilbertson, 1996; Frey et al. 2001). También se ha evidenciado la transcomplementación a nivel de movimiento entre dos geminivirus no relacionados filogenéticamente, el *tomato leaf curl virus New Delhi* (ToLCNDV) y el *tomato leaf curl Palampur virus* (ToLCPaLV), los cuales limitan la producción de tomate en India (Kanakala et al., 2013).

El establecimiento de pseudorecombinantes viables entre dos begomovirus requiere el cumplimiento de dos condiciones: 1) que la proteína Rep reconozca una serie de elementos de secuencia repetidos, denominados iterones, presentes en el promotor de los genes Rep y Mp, y 2) que ocurra transreplicación del componente genético B por parte del componente A begomoviral (Argüello-Astorga y Ruiz-Medrano, 2001; Kanakala et al., 2013; Borah et al., 2016; Avalos-Calleros et al., 2021). Por lo tanto, los iterones reconocidos específicamente por la proteína Rep son elementos cis-regulatorios esenciales para la replicación geminiviral (Hanley-Bowdoin et al., 2013). La habilidad con la cual la proteína Rep reconoce y se asocia a los iterones presentes en el componente B determina si es viable la pseudorecombinación entre begomovirus de diferentes especies (Harrison y Robinson, 1999). Es decir,

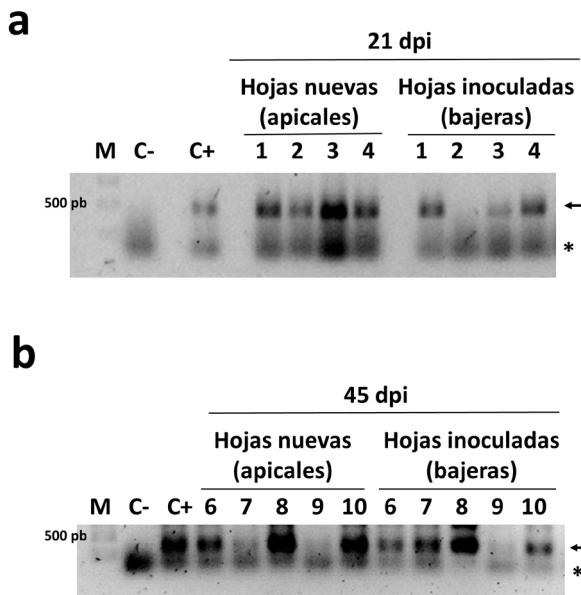


Fig. 2 Evaluación de transcomplementación mediante la detección por PCR del componente genómico A (ADN-A) en la combinación RhGMCV-A + VeMV-B. **a)** Detección del genoma A en hojas bajas inoculadas y en hojas apicales, colectadas 21 días post inoculación (dpi). **b)** Detección del genoma A en hojas bajas inoculadas y en hojas apicales, 45 dpi. M: marcador de peso molecular [Gene Ruler™ 1Kb DNA Lader (Thermo Scientific®)]; C-: control negativo de la reacción de PCR (agua); C+, control positivo de la reacción de PCR (PYMV-A clonado pBS). Los números (1 a 10) representan las diferentes plantas de tomate evaluadas. El asterisco indica el exceso de primer en la reacción de PCR. La flecha indica el tamaño de producto de PCR esperado (fragmento de 0,4 kb).

el intercambio entre componentes genómicos A y B sólo se lleva a cabo si las secuencias de sus iterones en sus regiones intergénicas son similares (Kanakala *et al.*, 2013; Aguilar *et al.*, 2020). La recombinación y pseudo-recombinación durante las infecciones mixtas de begomovirus son los principales mecanismos que pueden conducir a la aparición o emergencia de nuevos virus; por lo tanto, solanáceas como el tomate se convierten en el hospedero ideal debido a la gran cantidad de begomovirus que lo infectan y que conducen a enfermedades severas (Fargette *et al.*, 2006; Hanssen *et al.*, 2010; Vaca-Vaca *et al.*, 2012; Rojas *et al.*, 2018).

En las plantas de tomate inoculadas con tres de las cuatro combinaciones de begomovirus evaluadas se observó el desarrollo de síntomas (Fig. 4). Las plantas inoculadas con la combinación PYMV-A + VeMV-B mostraron epinastias, abultamientos y deformación de las hojas (borde ondulado) (Fig. 4b). Similitudes en la secuencia y orientación de iterones en VeMV-B y PYMV-A permitirían explicar los eventos de transreplicación y transcomplementación a nivel de movimiento observados, así como la replicación de estos virus (Figs. 1 y 2) y la posible expresión de factores de patogenicidad. De forma similar, los síntomas como abultamientos y deformaciones de las hojas observados en las plantas inoculadas con la combinación CohGMV-A + VeMV-B podrían explicarse nuevamente por la presencia de tres iterones similares en secuencia y orientación en sus

genomas. Además, PYMV, VeMV y CohGMV pertenecen al mismo clado del abutilón (AbMV) de acuerdo a los análisis filogenéticos reportados por Jara-Tejada (2016), lo cual apoya nuestros resultados.

Por el contrario, en el análisis bioinformático de los genomas RhGMCV-A y VeMV-B se identificaron seis iterones en RhGMCV-A y tres en VeMV-B, los cuales no son similares en disposición, secuencia, ni en orientación (Fig. 5). En las plantas de tomate co-inoculadas con esta combinación no se observaron síntomas (Fig. 4c), y en la detección por PCR del componente A de RhGMCV y componente B de VeMV, las bandas de amplificación obtenidas fueron tenues (Figs. 2 y 3). Estas observaciones sugieren que no ocurrió un evento de transreplicación eficiente y por lo tanto tampoco un ciclo infectivo viral. Nuestros resultados son apoyados por un reporte reciente, donde las plantas evaluadas no presentaron síntomas cuando fueron inoculadas con combinaciones de componentes genómicos de RhGMCV y otros begomovirus que tienen arreglos diferentes de iterones, (Avalos-Calleros *et al.*, 2021). Tomando como base las observaciones de Argüello *et al.* (1994) se puede afirmar que los pseudo-recombinantes formados entre RhGMCV-A + VeMV-B no se transreplican eficientemente entre sí, dada la marcada diferencia de sus iterones (Fig. 5). A este argumento puede añadirse que RhGMCV se agrupa en el mismo clado filogenético que forma el *Squash leaf curl virus* (SLCV), el cual se caracteriza por ser único y por estar

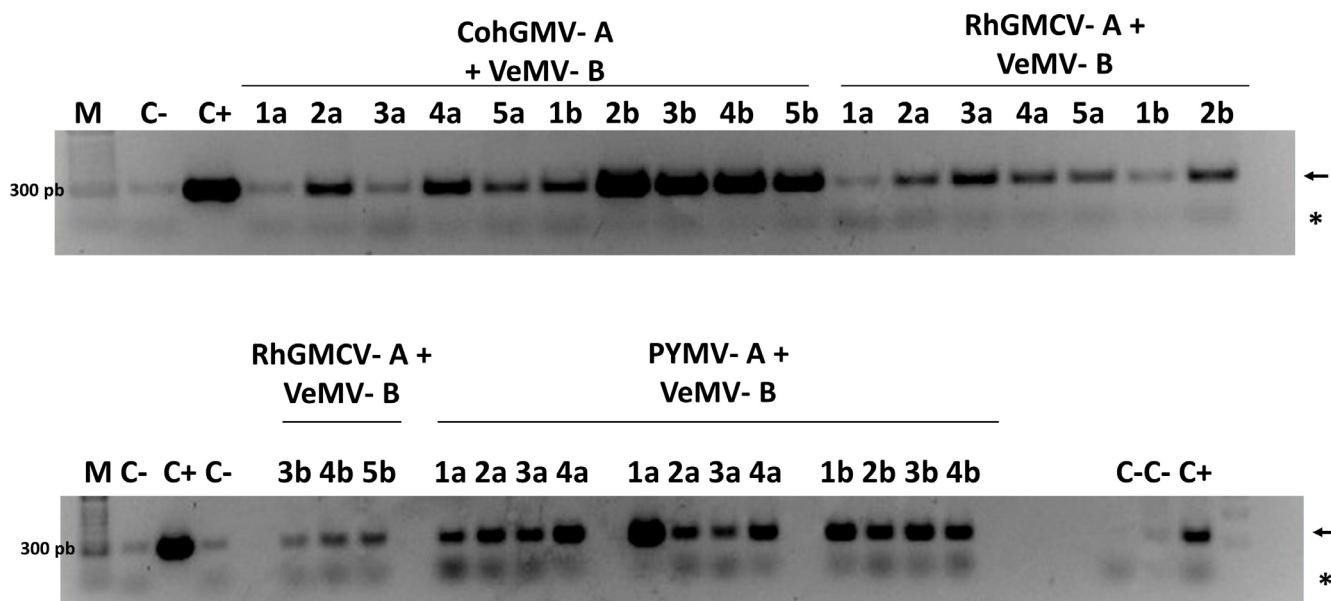


Fig. 3 Evaluación de transcomplementación mediante la detección por PCR del componente genómico B (DNA-B) de VeMV-B en hojas apicales (a) y hojas bajas (b) después de 21 días de la inoculación con las diferentes combinaciones. M: marcador de peso molecular [HyperLadder 100bp (Bioline®)]; C-: control negativo de la reacción de PCR; C+: control positivo de la reacción de PCR (VeMV-B clonado en pUC19). Los números (1 a 5) representan las diferentes plantas de tomate evaluadas. El asterisco indica el exceso de primer en la reacción de PCR. La flecha indica el tamaño de producto de PCR esperado (fragmento de 320 pb).

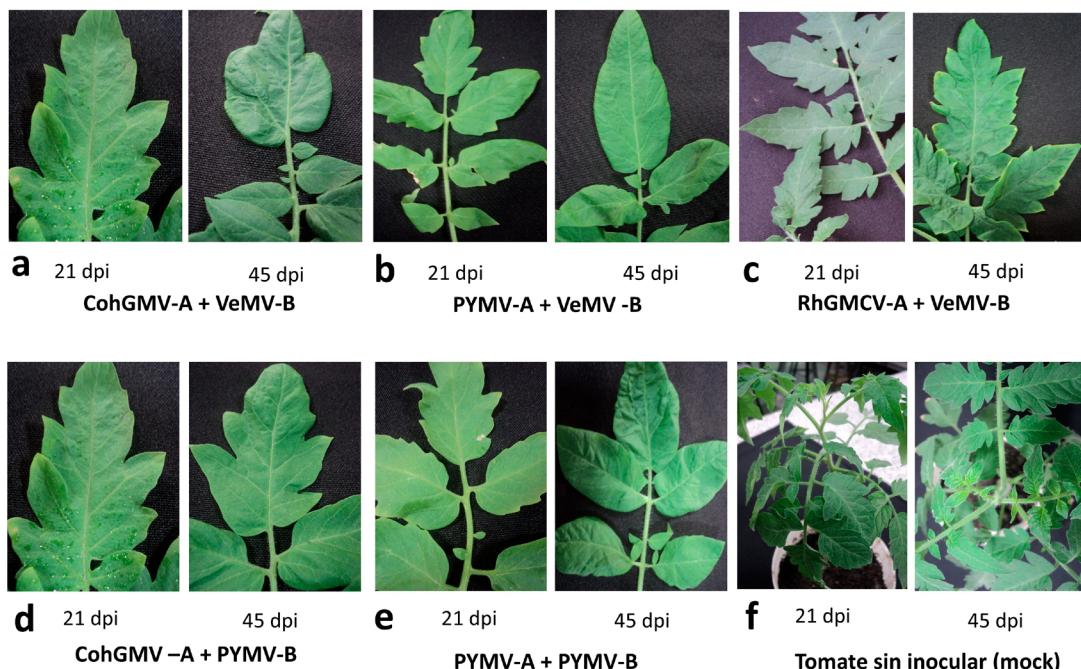


Fig. 4 Síntomas observados en las hojas apicales de las plantas de tomate inoculadas con las diferentes combinaciones de begomovirus, colectadas a los 21 y 45 días post-inoculación (dpi).

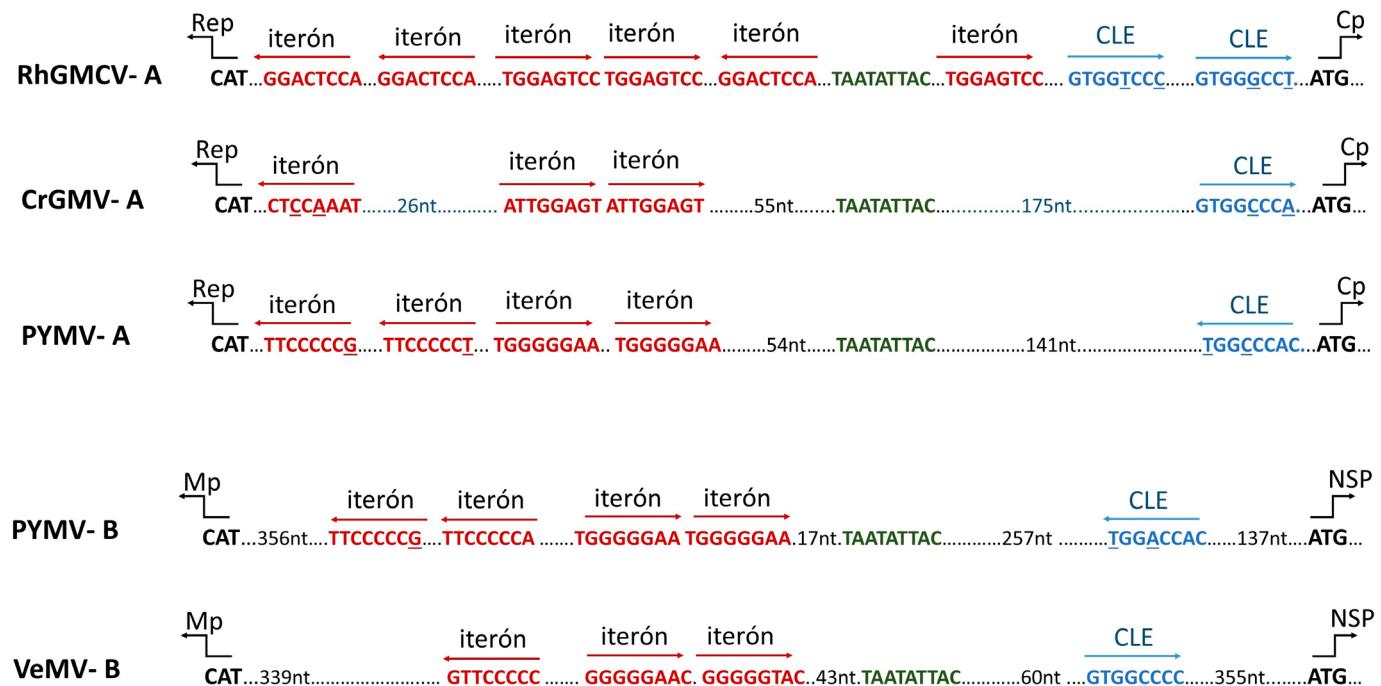


Fig. 5 Representación esquemática de la región intergénica de los componentes genómicos (ADN-A / ADN-B) de PYMV, RhGMCV, CohGMV y VeMV. Rep: proteína asociada a la replicación; Cp: proteína de la capside; Mp: proteína de movimiento; NSP: proteína de transporte de DNA viral a corta distancia. Los nucleótidos que son diferentes del consenso del elemento CLE e iterón se encuentran subrayados.

alejado de la gran mayoría de los begomovirus del hemisferio occidental (Argüello-Astorga et al., 1994). En la práctica esto significa que RhGMCV solo podría generar infecciones viables con otros begomovirus que pertenezcan a su mismo clado, o sea al grupo del SLCV.

CONCLUSIONES

Este es el primer trabajo donde se evaluó la posibilidad de transcomplementación heteróloga entre componentes genómicos del virus PYMV, un begomovirus que afecta cultivos de tomate, con componentes genómicos pertenecientes a begomovirus aislados de arvenses (CohGMV, RhGMCV y VeMV) que acompañan los cultivos de esta solanácea en el Valle del Cauca. Nuestros resultados mostraron complementación asimétrica a nivel de movimiento y replicación, además de eventos de transactivación heteróloga en infecciones mixtas entre PYMV con CohGMV, RhGMCV y VeMV. Estos eventos se explican por las similitudes en los elementos conservados tardíos (CLEs) identificados en los promotores de los genes Cp y NSP (presentes en los componentes A y B, respectivamente) de los begomovirus evaluados. Adicionalmente, se encontró evidencia de fenómenos de transreplicación en plantas de tomate cuando estas fueron co-bombardeadas con

mezclas de los componentes genómicos pertenecientes a PYMV-A + VeMV-B, CohGMV-A + PYMV-B, y CohGMV-A + VeMV-B. La similitud entre los iterones presentes entre los componentes A y B de PYMV, CohGMV y VeM explican estas observaciones. Estos resultados sugieren que de ocurrir co-infecciones naturales en un mismo hospedero, podrían emergir nuevos pseudorecombinantes begomovirales a partir de la combinación de los componentes genómicos de PYMV, CohGMV, RhGMCV y VeMV.

PARTICIPACIÓN DE AUTORES

KLL y JCWV, concepción de la idea y formulación de la metodología; AGT, ensayos en invernadero y análisis de muestras en laboratorio; AGT, KLL y JCWV, discusión de resultados, escritura del manuscrito y revisión de las observaciones al manuscrito. Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado con recursos de la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira (DIPAL) a través del proyecto código Hermes 31742.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Adams, M. J., Antoniw, J. F., y Kreuze, J. (2009). Virgaviridae: A new family of rod-shaped plant viruses. *Archives of Virology*, 154(12), 1967–1972. <https://doi.org/10.1007/s00705-009-0506-6>
- Aguilar, E., Garnelo, B., y Lozano-Duran, R. (2020). Recent advances on the plant manipulation by geminiviruses. *Current opinion in plant biology*, 56, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.03.009>
- Agronet. (s.f.). Estadísticas: Reporte: Área, Producción y Rendimiento Nacional por Cultivo. <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>
- Álvarez-Viveros, M. F., Inostroza-Blancheteau, C., Timmermann, T., González, M., y Arce-Johnson, P. (2013). Overexpression of *Glyl* and *Glyll* genes in transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) plants confers salt tolerance by decreasing oxidative stress. *Molecular Biology Reports*, 40(4), 3281–3290. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2403-4>
- Avalos-Calleros, J. A., Pastor-Palacios, G., Bolaños-Martínez, O. C., Mauricio-Castillo, A., Gregorio-Jorge, J., Martínez-Marrero, N., Bañuelos-Hernández, B., Méndez-Lozano, J., y Arguello-Astorga, G. R. (2021). Two strains of a novel begomovirus encoding Rep proteins with identical 1 strands but different 5 strands are not compatible in replication. *Archives of virology*, 166(6), 1691–1709. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05066-2>
- Arguello-Astorga, G. R., Guevara-González, R. G., Herrera-Estrella, L. R., y Rivera-Bustamante, R. F. (1994). Geminivirus Replication Origins Have a Group-Specific Organization of Iterative Elements: A Model for Replication. *Virology*, 203(1), 90–100. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1458>
- Arguello-Astorga, G. R., y Ruiz-Medrano, R. (2001). An iteron-related domain is associated to Motif 1 in the replication proteins of geminiviruses: Identification of potential interacting amino acid-base pairs by a comparative approach. *Archives of Virology*, 146(8), 1465–1485. <https://doi.org/10.1007/s007050170072>
- Arnaud, L. S., Santos, C. D. G., Lima, J. A. A., y Feitosa, F. A. A. (2007). Predominância de begomovírus em tomateiros na região produtora da Ibiapaba, Ceará, e sua detecção natural em plantas daninhas. *Fitopatologia Brasileira*, 32(3), 241–246. <https://doi.org/10.1590/s0100-41582007000300009>
- Beam, K., y Ascencio-Ibáñez, J. T. (2020). Geminivirus Resistance: A Minireview. *Frontiers in plant science*, 11, 1131. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01131>
- Berger, M. R., y Sunter, G. (2013). Identification of sequences required for AL2-mediated activation of the tomato golden mosaic virus-yellow vein *BR1* promoter. *The Journal of general virology*, 94(6), 1398–1406. <https://doi.org/10.1099/vir.0.050161-0>
- Betancour-Pérez, J. (2012). Identificación y caracterización molecular de virus transmitidos por mosca blanca bémisia tabaci que infectan tomate en la región andina de Colombia [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11656>
- Borah, B. K., Zarreen, F., Baruah, G., y Dasgupta, I. (2016). Insights into the control of geminiviral promoters. *Virology*, 495, 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.04.033>
- Butkovic, A., y Gonzalez, R. (2022). A brief view of factors that affect plant virus evolution. *Front. Virol.* 2. <https://doi.org/10.3389/fviro.2022.994057>
- Cantú-Iris, M., Pastor-Palacios, G., Mauricio-Castillo, J. A., Bañuelos-Hernández, B., Avalos-Calleros, J. A., Juárez-Reyes, A., Rivera-Bustamante, R., y Arguello-Astorga, G. R. (2019). Analysis of a new begomovirus unveils a composite element conserved in the CP gene promoters of several *Geminiviridae* genera: Clues to comprehend the complex regulation of late genes. *PLoS One*, 14(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210485>
- Da Silva, S. J. C., Castillo-Urquiza, G. P., Hora Júnior, B. T., Assunção, I. P., Lima, G. S. A., Pio-Ribeiro, G., Mizubuti, E. S., y Zerbini, F. M. (2011). High genetic variability and recombination in a begomovirus population infecting the ubiquitous weed *Cleome affinis* in northeastern Brazil. *Archives of virology*, 156(12), 2205–2213. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1119-4>
- Dellaporta, S. L., Wood, J., y Hicks, J. B. (1983). A Plant DNA Minipreparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1(4), 19–21. <https://doi.org/10.1007/BF02712670>
- Fargette, D., Konaté, G., Fauquet, C., Muller, E., Peterschmitt, M., y Thresh, J. M. (2006). Molecular ecology and emergence of tropical plant viruses. *Annual review of phytopathology*, 44, 235–260. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.120705.104644>
- Fiallo-Olivé, E., Lett, J. M., Martin, D. P., Roumagnac, P., Varsani, A., Zerbini, F. M., y Navas-Castillo, J. (2021). ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae* 2021. *The Journal of general virology*, 102(12). <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001696>
- Frey, P. M., Schärer-Hernández, N. G., Fütterer, J., Potrykus, I., y Puonti-Kaerlas, J. (2001). Simultaneous analysis of the bidirectional African cassava mosaic virus promoter activity using two different luciferase genes. *Virus genes*, 22(2), 231–242. <https://doi.org/10.1023/a:1008183827072>

- Frischmuth, T., Roberts, S., von Arnim, A., y Stanley, J. (1993). Specificity of bipartite geminivirus movement proteins. *Virology*, 196(2), 666-673. <https://doi.org/10.1006/viro.1993.1523>
- Fondong V. N. (2013). Geminivirus protein structure and function. *Molecular plant pathology*, 14(6), 635-649. <https://doi.org/10.1111/mpp.12032>
- Guerrero, J., Regedanz, E., Lu, L., Ruan, J., Bisaro, D. M., y Sunter, G. (2020). Manipulation of the Plant Host by the Geminivirus AC2/C2 Protein, a Central Player in the Infection Cycle. *Frontiers in plant science*, 11, 591. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00591>
- Hanley-Bowdoin, L., Bejarano, E. R., Robertson, D., y Mansoor, S. (2013). Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature reviews. Microbiology*, 11(11), 777-788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3117>
- Hanssen, I. M., Lapidot, M., y Thomma, B. P. H. J. (2010). Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular plant-microbe interactions*, 23(5), 539-548. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-5-0539>
- Harrison, B. D., y Robinson, D. J. (1999). Natural genomic and antigenic variation in whitefly-transmitted geminiviruses (begomoviruses). *Annual review of phytopathology*, 37, 369-398. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.37.1.369>
- Hernández-Espinal, L. A., Enríquez-Verdugo, I., Melgoza-Villagómez, C. M., Retes-Manjarrez, J. E., Velarde-Félix, S., Linares-Flores, P. J., y Garzón-Tiznado, J. A. (2018). Phylogenetic analysis and distribution of Begomovirus in pepper (*Capsicum annuum* L.) crop in Sinaloa, Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(2), 149-157. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.2.149-157>
- Hou, Y. M., y Gilbertson, R. L. (1996). Increased pathogenicity in a pseudorecombinant bipartite geminivirus correlates with intermolecular recombination. *Journal of Virology*, 70(8), 5430-5436. <https://doi.org/10.1128/jvi.70.8.5430-5436.1996>
- Jara-Tejada, F. (2016). Diversidad de Begomovirus presentes en arvenses asociados a cultivos de Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en el Suroriente del Valle del Cauca. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. [Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/56178>
- Jaramillo, J. E. y Tamayo, P. J. (2013). Enfermedades del tomate, pimentón, ají y berenjena en Colombia: guía para su diagnóstico y manejo. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/13267>.
- Kanakala, S., Jyothisna, P., Shukla, R., Tiwari, N., Veer, B. S., Swarnalatha, P., Krishnareddy, M., y Malathi, V. G. (2013). Asymmetric synergism and heteroencapsulation between two bipartite begomoviruses, tomato leaf curl New Delhi virus and tomato leaf curl Palampur virus. *Virus Research*, 174(1-2), 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.03.011>
- Khan, A. J., Mansoor, S., y Briddon, R. W. (2014). Oman: a case for a sink of begomoviruses of geographically diverse origins. *Trends in plant science*, 19(2), 67-70. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.11.004>
- Lefkowitz, E. J., Dempsey, D. M., Hendrickson, R. C., Orton, R. J., Siddell, S. G., y Smith, D. B. (2018). Virus taxonomy: The database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D708-D717. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx932>
- Lacatus, G., y Sunter, G. (2008). Functional analysis of bipartite begomovirus coat protein promoter sequences. *Virology*, 376(1), 79-89. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.03.012>
- López-López, K., Corredor-Rodríguez, A., Correa-Forero, A. M., Álvarez-Rubiano, L. P., Suárez-Rodríguez, A., y Vaca-Vaca, J. C. (2022). Detección molecular de begomovirus aislados de arvenses asociadas al cultivo de ají (*Capsicum spp.*) en el Valle del Cauca, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 27(3), 336-346. <https://doi.org/10.15446/abc.v27n3.89802>
- López-López, K., Jara-Tejada, F., y Vaca-Vaca, J. C. (2014). Nuevos hospederos alternativos de Begomovirus identificados en Valle del Cauca. *Revista Fitopatología Colombiana*, 38(9), 19-23.
- López-López, K., Jara-Tejada, F., y Vaca-Vaca, J. C. (2019). Caracterización molecular de un nuevo begomovirus aislado de cinco especies de arvenses colectadas en cultivos de tomate en Valle del Cauca. *Acta Biológica Colombiana*, 24(3), 528-537. <https://doi.org/10.15446/abc.v24n3.79366>
- López-López, K., Otavo-Fiscal, D., y Vaca-Vaca, J. C. (2012). Búsqueda de hospederos alternativos del virus del mosaico amarillo de la papa, un begomovirus que afecta cultivos de tomate en el Valle del Cauca. *Acta Agronomía*, 61(SPL.ISS.), 24-25.
- López-López, K., Rodríguez-Mora, D. M., y Vaca-Vaca, J. C. (2013). Optimización de las condiciones de inoculación por biobalística de un Begomovirus en tomate y tabaco. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(2), 8-17. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v15n2.41261>
- Navas-Castillo, J., Fiallo-Olivé, E., y Sánchez-Campos, S. (2011). Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual review of phytopathology*, 49, 219-248. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095235>
- Maliano, M. R., Rojas, M. R., Macedo, M. A., Barboza, N., y Gilbertson, R. L. (2022). The invasion biology of tomato begomoviruses in Costa Rica reveals neutral synergism that may lead to increased disease pressure and economic loss. *Virus research*, 317. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198793>
- Morales, F., y Olaya, C. (2009). Enfermedades del tomate (*Solanum lycopersicum* L) *Fitopatología Colombiana*, 33(1), 23-27.

- Ramos, P. L., Fuentes, A. D., Quintana, Q., Castrillo, G., Guevara-González, R. G., Peral, R., Rivera-Bustamante, R. F., y Pujol, M. (2004). Identification of the minimal sequence required for vascular-specific activity of Tomato mottle Taino virus Replication-associated protein promoter in transgenic plants. *Virus research*, 102(2), 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2004.01.027>
- Rojas, M. R., Macedo, M. A., Maliano, M. R., Soto-Aguilar, M., Souza, J. O., Briddon, R. W., Kenyon, L., Rivera, R. F., Zerbini, F. M., Adkins, S., Legg, J. P., Kvarnheden, A., Wintermantel, W. M., Sudarshana, M. R., Peterschmitt, M., Lapidot, M., Martin, D. P., Moriones, E., Inoue-Nagata, A. K., y Gilbertson, R. L. (2018). World Management of Geminiviruses. *Annual review of phytopathology*, 56, 637-677. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100327>
- Rosen, R., Kanakala, S., Kliot, A., Pakkianathan, B. C., Farich, B. A., Santana-Magal, N., Elimelech, M., Kontsedalov, S., Lebedev, G., Cilia, M., y Ghanim, M. (2015). Persistent, circulative transmission of begomoviruses by whitefly vectors. *Current opinion in virology*, 15, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.06.008>
- Ruiz-Medrano, R., Guevara-González, R. G., Argüello-Astorga, G. R., Monsalve-Fonnegra, Z., Herrera-Estrella, L. R., y Rivera-Bustamante, R. F. (1999). Identification of a sequence element involved in AC2-mediated transactivation of the pepper huasteco virus coat protein gene. *Virology*, 253(2), 162-169. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9484>
- Padidam, M., Sawyer, S., y Fauquet, C. M. (1999). Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology*, 265(2), 218-225. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.0056>
- Sunter, G., y Bisaro, D. M. (2003). Identification of a minimal sequence required for activation of the tomato golden mosaic virus coat protein promoter in protoplasts. *Virology*, 305(2), 452-462. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1757>
- Sunter, G., Stenger, D. C., y Bisaro, D. M. (1994). Heterologous complementation by geminivirus AL2 and AL3 genes. *Virology*, 203(2), 203-210. <https://doi.org/10.1006/viro.1994.1477>
- Umaharan, P., Padidam, M., Phelps, R. H., Beachy, R. N., y Fauquet, C. M. (1998). Distribution and diversity of geminiviruses in Trinidad and Tobago. *Phytopathology*, 88(12), 1262-1268. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.12.1262>
- Vaca-Vaca, J. C., Betancur-Pérez, J. F., y López-López, K. (2012). Distribución y diversidad genética de Begomovirus que infectan tomate (*Solanum lycopersicum* L) en Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(1), 60-76.
- Vaca-Vaca, J. C., Corredor-Saenz, V., Jara-Tejada, F., Betancourt-Andrade, D., y Lopez-Lopez, K. (2019). Nuevos hospederos alternativos de begomovirus asociados al cultivo de ají en el Valle del Cauca. *Acta Agronómica*, 68(1), 56-60. <https://doi.org/10.15446/acag.v68n1.77487>
- Vaca-Vaca, J. C., Jara-Tejada, F., y López-López, K. (2018). Croton golden mosaic virus: a new bipartite begomovirus isolated from *Croton hirtus* in Colombia. *Archives of Virology*, 163(11), 3199-3202. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3989-1>
- Vaca-Vaca, J. C., Jara-Tejada, F., y López-López, K. (2020). Caracterización molecular parcial de Begomovirus aislados de arvenses colectadas en cultivos de tomate en el sureste del Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 14(1). <https://doi.org/10.17584/rcch.2020v14i1.10434>
- Vaca-Vaca, J. C., Otavo-Fiscal, D., y López-López, K. (2011). Identificación de arvenses como hospederos naturales de Begomovirus en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista Fitopatología Colombiana*, 35(2), 69-72.
- Verbeek, M., y Dullemans, A. M. (2012). First Report of *Tomato torrado* virus Infecting Tomato in Colombia. *Plant disease*, 96(4), 592. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-11-1000>
- Vinodh-Kumar, R., y Shivaprasad, P. V. (2020). Plant-virus-insect tritrophic interactions: insights into the functions of geminivirus virion-sense strand genes. *Proceedings. Biological sciences*, 287(1936). <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.1846>