

Identification of begomoviruses in tomato and determination of seed transmission in Atlacomulco, Mexico State

Identificación de begomovirus en tomate y determinación de su transmisión por semilla en Atlacomulco, estado de México

Maria del Carmen Zuñiga Romano, Daniel Leobardo Ochoa Martínez*, Reyna Isabel Rojas Martínez, Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, CP 56230, México; Erika Janet Zamora Macorra, Universidad Autónoma Chapingo Km 38.5 Carretera México-Texcoco, CP. 56230, Texcoco, Estado de México. * Autor para correspondencia: ldaniel@colpos.mx

Recibido: 14 de Febrero, 2019.

Aceptado: 22 de Marzo, 2019.

Zuñiga-Romano MC, Ochoa-Martínez DL, Rojas-Martínez RI and Zamora-Macorra EJ. Identification of begomoviruses in tomato and determination of seed transmission in Atlacomulco, Mexico State. Mexican Journal of Phytopathology 37(2).

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1902-2

Primera publicación DOI: 01 de Abril, 2019.

First DOI publication: April 01, 2019.

Resumen. En un invernadero de alta tecnología ubicado en Atlacomulco, Estado de México, se han observado incidencias del 60 al 90% de plantas con síntomas típicos de begomovirus. Los objetivos del presente estudio fueron identificar begomovirus presentes, conocer si se transmiten por semilla, determinar la especie de mosca blanca y si ésta es portadora de los virus. Hojas de plantas adultas con síntomas se analizaron con oligonucleótidos universales para begomovirus. Semillas de frutos de plantas positivas a begomovirus se sembraron en almácigos para obtener plántulas, éstas y parte

Abstract. In a high-tech greenhouse located at Atlacomulco, Mexico State, incidences from 60 to 90% of plants showing symptoms associated to begomoviruses have been observed. The objectives of this study were to identify the begomoviruses present, to know if they are transmitted by seed, to determine the species of whitefly and if they are carriers of the virus. Leaves of adult symptomatic plants were analyzed with universal primers for begomoviruses. Seeds of fruits from positive plants were seeded to obtain seedlings; seeds and seedlings were analyzed by PCR for begomoviruses. Adults whiteflies were analyzed with specific primers to the mitochondrial gene of the cytochrome C oxidase subunit I and universal primers for begomoviruses. Sequences of PCR products from symptomatic plants had 99% of identity with *Tomato severe leaf curl virus* (ToSLCV). No begomoviruses were detected in seed and seedlings. Sequences from the whiteflies present in the greenhouse had an identity of 99% with *Bemisia tabaci* and they were carriers of ToSLCV. This is the first report of ToSLCV infecting tomato grown in greenhouse in Mexico.

de las semillas se analizaron por PCR para detectar begomovirus. Adultos de mosca blanca se analizaron con oligonucleótidos específicos del gen mitocondrial de la subunidad I del citocromo C oxidasa y con oligonucleótidos universales para begomovirus. Las secuencias de los productos obtenidos por PCR de plantas con síntomas tuvieron una similitud de 99% con el *Tomato severe leaf curl virus* (ToSLCV). No se detectaron begomovirus en semilla y plántula. Las secuencias obtenidas por PCR de mosca blanca en el invernadero tuvieron 99% de similitud con *Bemisia tabaci* y los individuos analizados fueron portadores del ToSLCV. Este es el primer reporte del ToSLCV asociado a tomate en invernadero en México.

Palabras clave: *Tomato severe leaf curl virus*, *Bemisia tabaci*, *Solanum lycopersicum*.

En México, el tomate (*Solanum lycopersicum*) es el segundo cultivo en importancia después del chile con una producción de 3.2 millones de toneladas en 2017 y las enfermedades causadas por begomovirus constituyen una limitante para su producción. Los begomovirus se consideran patógenos emergentes de cultivos tropicales y subtropicales, pueden tener una o dos moléculas de ADN monocatenarias circulares (denominadas componentes A y B, respectivamente) de aproximadamente 2.6 kb cada una y están constituidos de dos partículas isométricas incompletas unidas. El componente B depende del A para la replicación del virus, ambos tienen una región común (CR) de aproximadamente 200 pb y son necesarios para que ocurra la infección. En África, Asia, Australasia y Europa, la mayoría de los begomovirus son de genoma monopartito y algunos tienen un genoma bipartito, mientras que los nativos del continente Americano son en su mayoría bipartitos. En la naturaleza, los

Key words: *Tomato severe leaf curl virus*, *Bemisia tabaci*, *Solanum lycopersicum*.

In Mexico, the tomato (*Solanum lycopersicum*) is the second most important crop, after the chili pepper, with a production of 3.2 million tons in 2017, and the diseases caused by begomoviruses can decrease its production. Begomoviruses are considered emerging pathogens from tropical and subtropical crops, they may have one or two circular single-stranded DNA molecules (designed as component A and B, respectively), of approximately 2.6 kb each, and are made up of two joined incomplete isometric particles. Component B depends on A for viral replication, both have a common region (CR) of approximately 200 bp, and they are necessary for cause infection. In Africa, Asia, Australasia and Europe, most begomoviruses have a monopartite genome, and some have a bipartite genome, whereas in America are mostly bipartite. In nature, begomoviruses are not transmitted mechanically, but rather do so efficiently by the complex of species of *Bemisia tabaci* in a persistent manner. The outbreaks of diseases caused by these viruses in tomato plants have been attributed to the introduction and spreading of diverse biotypes of *B. tabaci* that are polyphagous and easily colonize the crop (Brown *et al.*, 2015).

Most of the seed-transmitted viruses have an RNA genome. However, some begomoviruses have been reported which can also be transmitted in this way (Ortega *et al.*, 2019). High technology tomato-producing greenhouses allocate almost all of their entire production for export. In greenhouses located in Atlacomulco, Mexico State, the *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), *Tobacco mosaic virus* (TMV) and *Pepino mosaic virus* (PepMV) have been found in plants showing mosaics and small necrotic lesions in the first case, as well as

begomovirus no se transmiten mecánicamente pero lo hacen de manera eficiente de forma persistente por el complejo de especies de *Bemisia tabaci*. La aparición de brotes de enfermedades ocasionadas por estos virus en tomate se ha atribuido a la introducción y propagación de diversos biotipos de *B. tabaci* que son polífagos y colonizan fácilmente al cultivo (Brown *et al.*, 2015).

La mayoría de los virus fitopatógenos que se transmiten por semilla poseen genoma de ARN. Sin embargo, recientemente se han reportado algunos begomovirus que también pueden transmitirse de este modo (Ortega *et al.*, 2019). Los invernaderos productores de tomate de alta tecnología destinan casi la totalidad de su producción al mercado de exportación. En invernaderos localizados en Atlacomulco, Estado de México, se ha detectado al *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), *Tobacco mosaic virus* (TMV) y *Pepino mosaic virus* (PepMV) en plantas con mosaicos y pequeñas lesiones necróticas en el primer caso, así como al *Mexican papita viroid* (MPVd) en plantas con síntomas de acortamiento de entrenudos y reducción del tamaño de folíolos en la parte apical. En los últimos meses se han observado incidencias de 60 a 90% de plantas donde, además de mosaicos en ciertos casos, se observan abarquillamientos, moteados, amarillamientos y, en situaciones severas, reducción del tamaño del fruto, síntomas característicos de una infección por begomovirus, ocasionando pérdidas económicas al disminuir el número de frutos aptos para su comercialización. Considerando que las plantas con esta nueva sintomatología han sido negativas a INSV, TMV, PepMV y MPVd, el propósito de esta investigación fue identificar a los begomovirus asociados, establecer si se transmiten por semilla, determinar la especie de mosca blanca presente en los invernaderos y confirmar si ésta es portadora del virus.

Se recolectó tejido foliar del estrato superior de plantas de tomate que tenían los síntomas descritos

the *Mexican papita viroid* (MPVd) in plants with internodal shortening and reductions in the size of leaflets in the apical area. In recent months, incidences have been observed in 60 to 90% of plants, which included, not only mosaics in certain cases, but also leaf curling, spotting, yellowing, and, in severe situations, reduction in the size of the fruit, typical symptoms caused by begomoviruses, causing economic losses due to the reduction in the number of marketable fruits. Considering that plants with this new symptomatology have tested negative for INSV, TMV, PepMV and MPVd, the purpose of this investigation was to identify the related begomoviruses, to establish if they are seed-transmitted, to determine the species of whitefly present in the greenhouses, and confirm if this insect is a virus carrier.

Foliar tissue was collected from the top of tomato plants with the symptoms described above. At the base of the symptomatic plants, Moëricke traps containing water + liquid soap (1000:1 v/v) were placed in order to collect insects in 15 mL Falcon tubes containing 96% ethanol every week for one month. DNA was extracted from plants following the protocol by Dellaporta *et al.* (1983), from 0.1 g of the collected tissue; for whitefly DNA was extracted from 5 adult individuals with CTAB 2%. In the latter case, the insects were washed four times with distilled water and macerated in a 1.5 mL tube containing 500 µL of CTAB. The tubes were mixed in a vortex for 2 min, incubated at 65 °C in a thermoblock for 15 min, kept for 10 min at room temperature to add 500 µL of chloroform, and then mixed by inverting for 10 min. They were centrifuged at 13,000 rpm for 10 min and 400 µL of the supernatant were placed to a new 1.5 mL tube, then added 200 µL of isopropanol and incubated at -20 °C for 20 min. After being centrifuged at 13,000 rpm for 15 min at 4 °C, the supernatant was poured to add 1 mL of absolute ethanol and centrifuged again at 13,000 rpm for 10 min at

anteriormente. En la base de las plantas con síntomas se colocaron trampas Moëricke conteniendo agua + jabón líquido (1000:1 v/v) para recolectar semanalmente insectos en tubos Falcon de 15 mL que contenían etanol 96% durante un mes. Se extrajo ADN de plantas siguiendo el protocolo de Dellaporta *et al.* (1983), a partir de 0.1 g del tejido recolectado, mientras que para mosca blanca fue con CTAB 2% a partir de 5 individuos adultos. En este último caso, los insectos fueron lavados cuatro veces con agua destilada y colocados en un tubo de 1.5 mL que contenía un balón estéril y 500 µL de CTAB. Los tubos se mezclaron en vórtex por 2 min, fueron incubados a 65 °C en un termoblock por 15 min, permanecieron 10 min a temperatura ambiente para agregarles 500 µL de cloroformo y mezclarlos por inversión durante 10 min. Fueron centrifugados a 13,000 rpm por 10 min y 400 µL del sobrenadante se pasaron a un nuevo tubo de 1.5 mL para agregarles 200 µL de isopropanol e incubarlos a -20 °C por 20 min. Después de ser centrifugados a 13,000 rpm por 15 min a 4 °C, se decantó el sobrenadante para agregar 1 mL de etanol absoluto y centrifugarse nuevamente a 13,000 rpm por 10 min a 4 °C; el alcohol fue decantado, la pastilla desecada a temperatura ambiente y resuspendida en 50 µL de agua de ampollita. En ambos casos, la concentración y pureza del ADN fue cuantificada en un Nanodrop® y su integridad corroborada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%.

En el caso de las plantas se usaron los oligonucleótidos universales para begomovirus AV494 (5'-GCCYATRTRAYAGRAAGCCMAG-3')/AC1048 (5'-GGRTTDGARGCATGHGTACATG-3') que amplifican un fragmento de ~550 pb de la cubierta proteica (Wyatt y Brown, 1996).

Para determinar la especie de mosca blanca se realizó PCR con los oligonucleótidos LCO1490 y HCO2198 reportados por Vrijenhoek (1994) que amplifican una región de ~710 pb del gen mitocondrial

4 °C; the alcohol was poured, the pellet was dried at room temperature and resuspended in 50 µL of injectable water. In both cases, DNA concentration and purity was quantified in Nanodrop® and its integrity was corroborated by gel electrophoresis in 1% agarose gel.

For plants, the universal primers for begomoviruses AV494 (5'-GCCYATRTRAYAGRAAGCCMAG-3')/AC1048 (5'-GGRTTDGARGCATGHGTACATG-3') were used, which amplify a fragment of ~550 bp of the coat protein (Wyatt and Brown, 1996).

To determine the species of whitefly, a PCR was carried out with primers LCO1490 and HCO2198 reported by Vrijenhoek (1994), which amplify a fragment of ~710 bp of the mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I gene (COI). The fragments obtained for begomovirus and COI were sequenced and the sequences obtained were compared and registered in the GenBank® database. In addition, to find out if the whiteflies collected were carriers of begomoviruses, the DNA obtained from these insects was analyzed by PCR with primers AV494/ AC1048. The amplified product was sequenced and compared with the GenBank® database.

Seeds were obtained from mature fruits from plants tested positive for begomovirus, as well as from asymptomatic plants that were negative by PCR. For this, the fruit was cut in half, the seeds were extracted and placed in a container to wash them with tap water. They were later disinfested with 10% sodium hypochlorite for 3 min, washed five times with distilled water and dried on sterilized paper towels for 10 min.

DNA was extracted from 10 seeds taken from plants that tested positive, and another 10, from plants that tested negative for begomoviruses, respectively, following the protocol by Dellaporta *et al.* (1983). Afterwards, they were analyzed by

de la subunidad I del citocromo C oxidasa (COI). Los fragmentos amplificados para begomovirus y COI fueron secuenciados y las secuencias obtenidas se compararon y registraron en la base de datos del GenBank®. Adicionalmente, para conocer si las moscas blancas colectadas son portadoras de begomovirus, el ADN obtenido de estos insectos se analizó por PCR con los oligonucleótidos AV494/AC1048. El producto amplificado se secuenció y comparó en la base de datos del GenBank®.

Se obtuvieron semillas de frutos maduros de plantas positivas a begomovirus así como de plantas asintomáticas que fueron negativas por PCR. Para ello se cortó el fruto por la mitad, se extrajeron las semillas y se colocaron en un colador para lavarlas bajo el chorro de agua de la llave. Posteriormente se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 10% por 3 min, se lavaron de cuatro a cinco veces con agua destilada y se secaron sobre papel absorbente estéril por 10 min.

Se extrajo ADN a partir de 10 semillas provenientes de plantas positivas y 10 negativas a begomovirus respectivamente, siguiendo el protocolo de Dellaporta *et al.* (1983). Posteriormente se analizaron por PCR con oligonucleótidos universales para begomovirus AV494/AC1048 (Wyatt y Brown, 1996).

Por otro lado, se sembraron 50 semillas de frutos de plantas positivas a begomovirus en charolas germinadoras con suelo estéril; como testigo se sembraron 50 semillas de frutos obtenidos de plantas negativas. En ambos casos las charolas se mantuvieron en cámara de ambiente controlado a una temperatura promedio de 27 °C y un fotoperiodo de 16 h. Se colectaron hojas verdaderas a los 14, 21 y 28 días después de la siembra y se extrajo ADN (Dellaporta *et al.*, 1983) para realizar PCR.

Los principales síntomas observados en las plantas colectadas fueron reducción del crecimiento y abarquillamiento además de mosaico y manchas

PCR with universal primers for begomoviruses AV494/AC1048 (Wyatt and Brown, 1996).

On the other hand, 50 seeds taken from fruits positive for begomovirus were planted in germination trays with sterile soil; as a control 50 seeds taken from fruits of plants that tested negative were used. In both cases, the trays were kept in a growth chamber, at 27 °C and a photoperiod of 16 h. True leaves were collected 14, 21 and 28 days after planting, and DNA was extracted (Dellaporta *et al.*, 1983) to carry out PCR.

The main symptoms observed in the plants collected were reduction in growth and leaf curling, as well as mosaics and chlorotic spots in some cases (Figures 1A-1C), which have been associated to begomovirus infection. Previously, plants were sporadically found with mosaic, distributed at random throughout the greenhouse; some tested positive for *Impatiens necrotic spot virus*, *Tobacco mosaic virus* or *Pepino mosaic virus* and negative for *Cucumber mosaic virus* and *Tomato spotted wilt virus* as well as a higher number (~30%) of plants with a shortening of internodes and small leaflets in the top, which tested positive for *Mexican papita viroid* (data not shown). The presence of a high percentage of plants with a severe reduction in growth and leaf curling suggested the presence of a virus or viroid different to those analyzed previously.

The adult whiteflies collected in Moëricke traps were morphologically similar, and were recovered practically intact (Figure 1D). The expected product for begomovirus in the tomato symptomatic plants was obtained (Figure 1E). The sequences of the products obtained (Accession number MK325267 and MK325268) had an identity of 99% with the *Tomato severe leaf curl virus* (ToSLCV). In Mexico, the ToSLCV was first reported in tomato crops in Baja California Sur (Holguín *et al.*, 2003), and then in Rioverde, San Luis Potosí and

cloróticas en algunos casos (Figuras 1A-1C), los cuales se han asociado a begomovirus. Previamente se detectó de manera esporádica plantas con mosaico distribuidas aleatoriamente en el invernadero, algunas fueron positivas a *Impatiens necrotic spot virus*, *Tobacco mosaic virus* o *Pepino mosaic virus* y negativas a *Cucumber mosaic virus* y *Tomato spotted wilt virus* así como un mayor número (~30%) de plantas con acortamiento de entrenudos y folíolos pequeños en la parte apical que resultaron positivas a *Mexican papita viroid* (datos no

Xochitepec, Morelos. Only the begomoviruses *Chino del tomate virus* and *Pepper Huasteco virus* (currently *Pepper huasteco yellow vein virus*) had been reported in tomato grown under greenhouse conditions in Mexico.

The expected fragment of ~710 bp from whiteflies analyzed by PCR with primers of the COI gene was obtained (Figure 1F) and its sequence had an identity of 99% with *Bemisia tabaci* (access numbers MK290856, MK290857, MK290858 and MK290859). *B. tabaci* is the main vector species

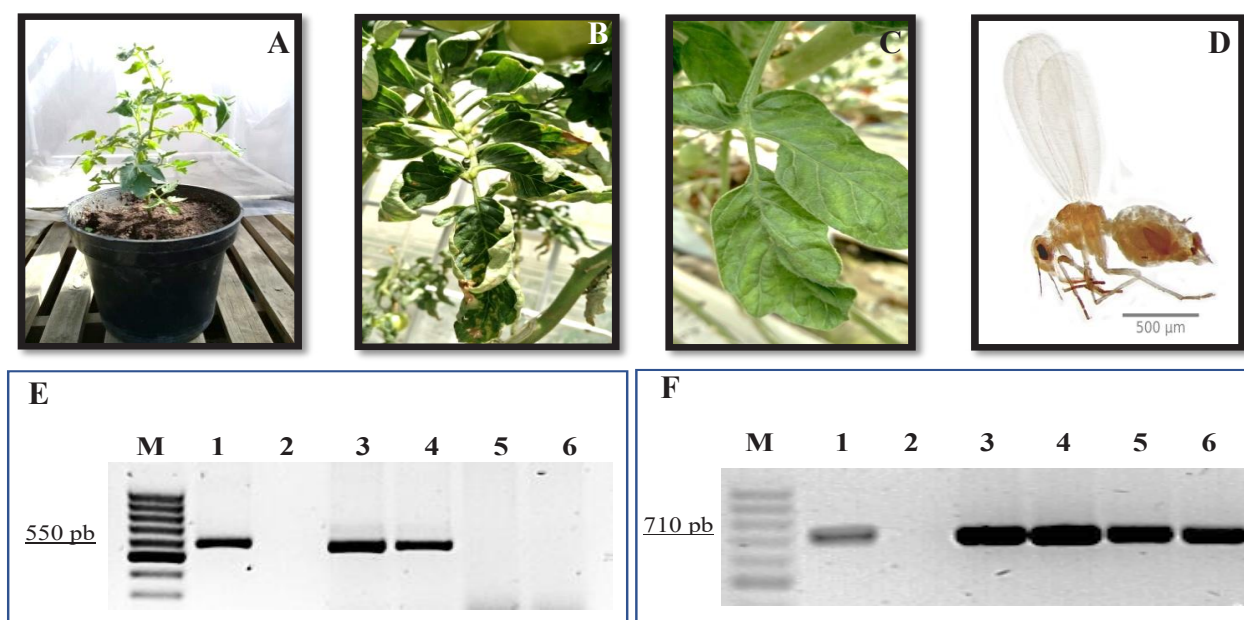


Figura 1. Síntomas en plantas de tomate asociados a begomovirus. A. Reducción severa del crecimiento y reducción de tamaño de hojas terminales. B. Abarquillamiento. C. Manchas cloróticas. D. Adulto de mosca blanca colectado en trampas Moëricke. E) Productos de PCR obtenidos con oligonucleótidos universales para begomovirus AV494/AC1048 (~550 pb) en plantas de tomate recolectadas en invernadero. Carril 1: Control positivo (planta infectada con *Okra yellow mosaic Mexico virus*); Carril 2: Control negativo (agua); Carril 3-4: Plantas con síntomas; Carriles 5-6: Plantas asintomáticas; Carril M: marcador de peso molecular 100 pb (Promega®). F) Productos de PCR obtenidos con oligonucleótidos LCO1490 y HCO2198 (~710 pb) a partir de ADN de mosca blanca. Carril 1: Control positivo (adulto de *Bemisia tabaci*); Carril 2: Control negativo (agua); Carriles 3-6: Adultos en trampas próximas a plantas con mosaico y abarquillamiento; Carril M: marcador de peso molecular 100 pb (Promega®).

Figure 1. Symptoms in tomato plants associated to begomovirus infection. A. Severe plant growth reduction and reduced size of terminal leaves. B. Leaf curling. C. Chlorotic spots. D. Adult whitefly collected in Moëricke traps. E) PCR products obtained with universal primers for begomoviruses AV494/AC1048 (~550 bp) in tomato plants collected in a greenhouse. Lane 1: Positive control (plant infected with *Okra yellow mosaic Mexico virus*); Lane 2: Negative control (water); Lanes 3-4: Symptomatic plants; Lane 5-6: Asymptomatic plants; Lane M: 100 bp DNA ladder (Promega®). F) PCR products obtained with primers LCO1490 and HCO2198 (~710 bp) from whiteflies DNA. Lane 1: Positive control (adult of *Bemisia tabaci*); Lane 2: Negative control (water); Lanes 3-6: Adults collected in traps near plants showing mosaic and leaf curling; Lane M: 100 bp DNA ladder (Promega®).

mostrados). La presencia de un alto porcentaje de plantas con una severa reducción del crecimiento y abarquillamiento sugirieron la presencia de un virus o viroide diferente de los analizados con anterioridad.

Los adultos colectados de mosca blanca en las trampas Moëricke fueron morfológicamente similares y se recuperaron prácticamente intactos (Figura 1D). Se tuvo amplificación del producto esperado para begomovirus en las plantas de tomate con los síntomas indicados (Figura 1E). Las secuencias de los productos obtenidos (No. acceso MK325267 y MK325268) tuvieron una identidad de 99% con el *Tomato severe leaf curl virus* (ToSLCV). En México, el ToSLCV fue reportado por vez primera en cultivos de tomate en Baja California Sur (Holgúin *et al.*, 2003), posteriormente en los municipios de Rioverde, San Luis Potosí, y Xochitepec, Morelos. En tomate cultivado en invernadero sólo se ha reportado a los begomovirus *Chino del tomate virus* y *Pepper Huasteco virus* (actualmente *Pepper huasteco yellow vein virus*).

En el ADN de las moscas blancas analizadas se obtuvo con los oligonucleótidos del gen COI el fragmento esperado de ~710 pb (Figura 1F) y su secuencia tuvo una identidad de 99% con *Bemisia tabaci* (Números de acceso MK290856, MK290857, MK290858 y MK290859). *B. tabaci* es la principal especie vectora de begomovirus a nivel mundial y, por lo general, los síntomas de amarillamiento, enchinamiento y reducción del crecimiento aunados a la presencia de este insecto vector en cultivos de tomate se consideran como un indicativo de la infección por estos fitopatógenos.

En diferentes estudios se menciona que altas poblaciones de *B. tabaci* están asociadas con infecciones de distintas especies de begomovirus en cultivos de tomate en México, lo cual contrasta con lo observado en el presente estudio donde el número de moscas blancas fue bajo.

of begomoviruses worldwide, and generally the symptoms of yellowing, leaf curling and growth reduction associated to the presence of this vector in tomato crops are considered an indication of the infection by these viruses.

In different studies, large populations of *B. tabaci* are related to infections of several species of begomoviruses in tomato crops in Mexico, which contrasts with observations in the present study, where the number of whiteflies was low.

The adult whitefly amplified the expected fragment for begomoviruses (~550 bp) (data not shown) and its sequence had an identity of 99% with ToSLCV (Accession numbers MK325269, MK325270 and MK325271). This correspondence between the virus found in tomato plants and associated whiteflies has been reported for *Tomato golden mottle virus*.

No begomoviruses were detected by PCR in seeds from tomato fruits obtained from symptomatic plants, nor in seedlings in the dates of evaluation. Certain begomoviruses which are not transmitted by seed of the crop, but rather in weeds, such as *Okra yellow mosaic Mexico virus*, which is not transmitted by roselle seed (*Hibiscus sabdariffa* L.), but it can transmit in *Sida collina*, *S. acuta*, *S. haenkeana* and *Malacra fasciata* seeds (Ortega *et al.*, 2019). These results, as well as the detection of ToSLCV in whiteflies and the high incidence of symptomatic plants, suggest that the population of *B. tabaci* found is efficient in the transmission of this begomovirus.

Based on the results obtained, it is the first report of *Tomato severe leaf curl virus* associated to tomato plants under greenhouse conditions, and its presence in adults of *B. tabaci* in Atlacomulco, Mexico State.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

Así mismo, los individuos de mosca blanca amplificaron el fragmento esperado para begomovirus (~550 pb) (datos no mostrados) y su secuencia tuvo una identidad de 99% con ToSLCV (Números de acceso MK325269, MK325270 y MK325271). Esta correspondencia del virus detectado en tomate y mosca blanca se ha encontrado con el *Tomato golden mottle virus*.

En el análisis de PCR no se detectó al begomovirus en semilla de frutos de tomate obtenidos de plantas con síntomas, ni en plántula en las fechas de evaluación. Se sabe de begomovirus que no se transmiten por semilla del hospedante de interés agrícola pero sí lo hacen en maleza, como en el caso del *Okra yellow mosaic Mexico virus* que no se transmite por semilla de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) pero sí en semilla de *Sida collina*, *S. acuta*, *S. haenkeana* y *Malacra fasciata* (Ortega et al., 2019). Estos resultados aunados a la detección del ToSLCV en mosca blanca y la alta incidencia de plantas con síntomas sugieren que la población de *B. tabaci* encontrada es eficiente en la transmisión del begomovirus.

Con base en los resultados obtenidos, se reporta por vez primera al *Tomato severe leaf curl virus* asociado a tomate en invernadero así como su presencia en Atlacomulco, Estado de México y su presencia en adultos de *B. tabaci*.

## LITERATURA CITADA

- Brown JK, Zerbini MF, Navas CJ, Moriones E, Ramos SR, Silva JCF, Fiallo OE, Briddon RW, Hernández ZC, Idris AM, Malathi VG, Martin DP, Rivera BR, Ueda S and Varisani A. 2015. Revision of begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. Archives of virology 160:1593-1619. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2398-y>
- Dellaporta SL, Wood J and Hicks JB. 1983. A plant DNA mini-preparation: version II. Plant Molecular Biology Reporter 1:19-21. <https://doi.org/10.1007/BF02712670>
- Holguín PRJ, Vázquez JR and Rivera BR. 2003. First report of a geminivirus associated with leaf curl in Baja California Peninsula tomato fields. Plant Disease 87:1397. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.11.1397A>
- Ortega AC, Ochoa MDL, Hernández MJ, Ramírez RS and Gutiérrez GJA. 2019. Evaluation of seed transmission of begomoviruses in roselle and roselle-associated weeds. Revista Mexicana de Fitopatología 37(1):135-146. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1806-3
- Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology Biotechnology 3:294-299. [https://www.mbari.org/wp-content/uploads/2016/01/Folmer\\_94MMBB.pdf](https://www.mbari.org/wp-content/uploads/2016/01/Folmer_94MMBB.pdf)
- Wyatt SD and Brown JK. 1996. Detection of subgroup III geminivirus isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction. Phytopathology 86:1288-1293. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/bac-kissues/Documents/1996Articles/Phyto86n12\\_1288.pdf](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/bac-kissues/Documents/1996Articles/Phyto86n12_1288.pdf)