

## INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS TRES ESPECIES DE BEGOMOVIRUS QUE INFECTAN TOMATE EN PANAMÁ<sup>1</sup>

**José Ángel Herrera-Vásquez<sup>2</sup>; José Natividad Jaén-Sanjur<sup>3</sup>;  
Salvatore Davino<sup>4</sup>; Stefano Panno<sup>4</sup>; Mario Davino<sup>5</sup>**

### RESUMEN

Se realizaron prospecciones en cultivos de tomate de las provincias de Chiriquí, Veraguas, Herrera, Los Santos, Coclé y Panamá Oeste, con el objetivo de determinar la incidencia y distribución geográfica de begomovirus durante el período 2011-2012. Se recolectaron 319 muestras de hojas de plantas de tomate mostrando síntomas similares a los causados por virus, en 28 localidades distintas, las cuales constituyen las principales zonas productoras de tomate en estas provincias. Se realizó la extracción de ADN de cada muestra y su análisis se llevó a cabo mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando dos parejas de iniciadores degenerados para detectar el género *Begomovirus*. Las muestras que mostraron un resultado positivo se analizaron con iniciadores específicos para identificar las especies de begomovirus. Ciento treinta y cinco (135) muestras de tomate (42,3% del total de muestras recolectadas) resultaron positivas al género *Begomovirus*, mientras que el 100% de estas 135 muestras resultó infectado con al menos un virus. Se determinó la presencia del virus del mosaico amarillo de la papa de Panamá (PYMPV), virus del enrollamiento de la hoja de tomate de Sinaloa (ToLCSiV) y del virus del moteado amarillo del tomate (TYMoV) en las muestras analizadas. Estos resultados fueron confirmados mediante secuenciación de ADN y análisis de secuencias. Se discutió la incidencia y distribución geográfica de estos virus en los cultivos de tomate en Panamá, la cual podría ayudar a establecer una base para el diseño de estrategias de control de estos patógenos.

**PALABRAS CLAVES:** PCR, PYMPV, *Solanum lycopersicum*, ToLCSiV, TYMoV.

<sup>1</sup>Recepción:19 de octubre de 2017. Aceptación:2 de diciembre de 2017. Investigación financiada por los proyectos FTG-7086/07/2007 del Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria (FONTAGRO) y 31-2011-4-ITE-002 de la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT).

<sup>2</sup>Ph.D. en Virología. IDIAP. Centro de Investigación Agropecuaria Central (CIAC). e-mail: joshervs11@gmail.com (Autor para correspondencia).

<sup>3</sup>Estudiante (Tesisista). Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología (FCNET), Universidad de Panamá (UP). e-mail: josenjaen@hotmail.com

<sup>4</sup>Ph.D. en Virología. Department of Agricultural and Forestry Science (SAF), University of Palermo, Palermo, Italy. e-mail: salvatore.davino@unipa.it / pannostefano@virgilio.it

<sup>5</sup>Ph.D. en Virología. Dipartimento Agricoltura, Alimentazione e Ambiente (Di3A), University of Catania, Catania, Italy. e-mail: mdavino@unicat.it

## INCIDENCE AND GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF THE THREE BEGOMOVIRUS SPECIES INFECTING TOMATO IN PANAMA

### ABSTRACT

Prospecting was carried out on tomato crops in the provinces of Chiriquí, Veraguas, Herrera, Los Santos, Coclé and West Panamá, with the objective of determining the incidence and geographic distribution of begomovirus during the period 2011-2012. Three hundred nineteen leaf samples from tomato plants showing similar symptoms to those caused by viruses were collected in 28 distinct locations, which constitute the main tomato producing zones in these provinces. DNA extraction was performed from each sample and its analysis was carried out by the polymerase chain reaction (PCR) technique, using two pairs of degenerate primers to detect the genus *Begomovirus*. Samples showing a positive result were analyzed with specific primers to identify begomovirus species. One hundred thirty-five (135) tomato samples (42,3% of the total samples collected) were positive for the genus *Begomovirus*, while 100% of these 135 samples were infected with at least one virus. The presence of the *Potato yellow mosaic Panama virus* (PYMPV), *Tomato leaf curl virus Sinaloa virus* (ToLCSiV) and *Tomato yellow mottle virus* (TYMoV) were determined in the samples analyzed. These results were confirmed by DNA sequencing and sequence analysis. The incidence and geographical distribution of these viruses in tomato crops in Panama was discussed, which could help to establish a basis for the design of control strategies of these pathogens.

**KEY WORDS:** PCR, PYMPV, *Solanum lycopersicum*, ToLCSiV, TYMoV.

### INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza más cultivada y de mayor valor económico en el mundo (Hanssen *et al.* 2010). Panamá ocupa el vigésimo segundo y el quinto lugar en producción de tomate en el continente americano y en América Central, respectivamente, con una superficie cultivada de 799 ha y una producción anual de 20097 t (FAO 2017).

En Panamá, se han observado plantas de tomate mostrando síntomas similares a los causados por begomovirus desde 1983, pero el virus del mosaico amarillo de la papa de Panamá (PYMPV; género *Begomovirus*, familia *Geminiviridae*) se presentó como un problema a partir de 1991, con el incremento de las poblaciones de la mosca blanca *Bemisia tabaci* Gennadius

(*Hemiptera: Aleyrodidae*) causado por el uso indiscriminado de insecticidas (Engel *et al.* 1998). Recientemente, se reportó en Panamá la presencia de otras dos especies de begomovirus, el virus del moteado amarillo del tomate (TYMoV) y el virus del enrollamiento de la hoja de tomate de Sinaloa (ToLCSiV), infectando tomate en las provincias de Herrera y Chiriquí, respectivamente (Herrera-Vásquez *et al.* 2016). Los begomovirus presentan uno (monopartito) o dos (bipartito) componentes genómicos, denominados ADN-A y ADN-B, y se transmiten de forma persistente por *B. tabaci* (Navas-Castillo *et al.* 2011). Las especies de *begomovirus* identificadas en Panamá poseen un genoma bipartito (Engel *et al.* 1998, Herrera-Vásquez *et al.* 2016).

En la década de los 90, el promedio anual de la producción de tomate en Panamá era de 36 t/ha, con pérdidas de rendimiento de 2,2 t/ha por año. Esta situación condujo a pérdidas económicas para los productores de US\$ 220/ha por año, representando US\$ 1000 000 en pérdidas durante el período 1991-1997, debido principalmente a las enfermedades causadas por el virus PYMPV (Engel *et al.* 1998). De igual forma, en el período 2011-2012, la incidencia de este virus alcanzó proporciones epidémicas en la provincia de Los Santos y en otras regiones dedicadas al cultivo de tomate en Panamá

(Herrera-Vásquez *et al.* 2016). Asimismo, en el período 2015-2016, se presentó una disminución de 6000 t (50%) de la producción de tomate, según informaron al periódico El Siglo de Panamá, la asociación de productores de tomate industrial de la provincia de Los Santos y el Ministerio de Desarrollo Agropecuario de Panamá (MIDA) (Mendoza 2015). A pesar de la importancia que ocupa el tomate cultivado a campo abierto y en casa de cultivo en Panamá, la información sobre la incidencia de enfermedades causadas por begomovirus está limitada a las provincias centrales del país (Engel *et al.* 1998).

La identificación de begomovirus debe ser un proceso permanente, dado que los nuevos patógenos requieren cambios continuos en las estrategias de manejo. Por lo tanto, este estudio se enfocó en realizar prospecciones en todas las regiones de Panamá donde se cultiva tomate a campo abierto y en casa de cultivo, con el objetivo de determinar la incidencia y distribución de begomovirus en los cultivos de tomate en el país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización geográfica y recolecta de muestras

Se recolectaron 319 muestras de tomate de diferentes cultivares comerciales (DRD 8539, Liro 42, Miramar,

SUN 7705 y Tointer) y locales (Entero Grande, IDIAP T-8 e IDIAP-T9), cultivados a campo abierto y en casa de cultivo en 28 parcelas ubicadas en 20 localidades de las provincias de Chiriquí, Veraguas, Herrera, Los Santos, Coclé y Panamá Oeste, durante el período de enero de 2011 a diciembre de 2012. Cada parcela se georreferenció con la ayuda de un sistema de posicionamiento global (GPS) portátil (Cuadro 1). El total de las muestras se tomaron de plantas que mostraban

síntomas similares a los causados por virus, con diferentes grados de severidad, incluyendo distorsión, mosaico amarillo en hojas, maduración irregular y reducción del tamaño en frutos de tomate (Figura 1). Se utilizó agua ultrapura estéril y se cultivaron plantas de tomate de los cultivares IDIAP T-7, IDIAP-T8 e IDIAP-T9 en una jaula a prueba de insectos, las cuales se utilizaron como controles negativos en los análisis mediante PCR.



**Figura 1. Síntomas de distorsión en hojas (a); mosaico amarillo en hojas (b); maduración irregular y reducción del tamaño en frutos de tomate (c); aspecto general de una parcela de tomate mostrando síntomas similares a los causados por virus (d).**

**CUADRO 1. INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE BEGOMOVIRUS POR PCR EN MUESTRAS DE TOMATE (PERIODO 2011-2012).**

Año de prospección	Localización geográfica	GPS		Sistema de producción	Muestras	Detección e identificación por PCR <sup>a</sup>						
		Coordenadas UTM (X/Y); Altitud <sup>b</sup>				Género Begomovirus	PYMPV	ToLCSIV	TYMoV	Negativa	infecciones simples <sup>c</sup> (%)	infecciones dobles <sup>c</sup> (%)
2011	Boquete, Chiriquí	341702/968814; 1185		CC	10	0	-	-	-	10	-	-
	Dolega, Chiriquí	334203/961779; 1127		CC	10	0	-	-	-	10	-	-
	Dolega, Chiriquí	332753/958011; 856		CA	10	0	-	-	-	10	-	-
	Renacimiento, Chiriquí	298499/974038; 855		CA	10	3	3	1 <sup>f</sup>	0	7	66,7	33,3
	Renacimiento, Chiriquí	295106/976224; 918		CA	11	5	5	2	0	6	60	40
	Boquerón, Chiriquí	324217/962547; 1093		CC	10	0	-	-	-	10	-	-
	Santiago, Veraguas	532752/899767; 38		CA <sup>d</sup>	9	4	4	0	0	5	100	0
	Pesé, Herrera	550653/870642; 54		CA	10	9	9	0	0	1	100	0
	Pesé, Herrera	548213/870471; 66		CA	10	4	4 <sup>f</sup>	0	1 <sup>f</sup>	6	75	25
	Pesé, Herrera	533231/873456; 107		CA	10	1	1	0	1 <sup>f</sup>	9	0	100
	Chitré, Herrera	560731/881739; 41		CA <sup>e</sup>	11	6	6	0	0	5	100	0
	Santa María, Herrera	534070/898353; 47		CC	8	0	-	-	-	8	-	-
	Guararé, Los Santos	578419/860964; 45		CA	10	8	8	0	0	2	100	0
	Guararé, Los Santos	569200/861426; 41		CA	5	4	4	0	0	1	100	0
	Los Santos, Los Santos	566544/867695; 70		CA	5	5	5	0	0	0	100	0
	Tonosí, Los Santos	563722/819099; 21		CA	10	7	7	0	0	3	100	0
	Antón, Coclé	596259/951188; 591		CA	15	0	-	-	-	15	-	-
Capira, Panamá	621068/973247; 147		CA	17	2	2	0	0	15	100	0	
<b>Subtotal</b>					<b>181</b>	<b>58</b>	<b>58</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>123</b>	<b>91,4</b>	<b>8,6</b>
2012	Boquete, Chiriquí	338607/973662; 1543		CC	13	1	1	0	0	12	100	0
	Renacimiento, Chiriquí	297912/977904; 1077		CC	12	9	9	7	0	3	22,2	77,8
	Renacimiento, Chiriquí	291339/966469; 1116		CC	11	10	8 <sup>f</sup>	9	0	1	30	70
	Renacimiento, Chiriquí	299095/966324; 818		CC	18	13	11	13 <sup>f</sup>	0	5	15,4	84,6
	Renacimiento, Chiriquí	302187/968662; 918		CC	12	8	7	8	0	4	12,5	87,5
	Santiago, Veraguas	532752/899767; 38		CA <sup>d</sup>	10	2	2	0	0	8	100	0
	Chitré, Herrera	560731/881739; 41		CA <sup>e</sup>	6	5	5	0	0	1	100	0
	Santa María, Herrera	533973/898323; 39		CC	25	23	23	0	0	2	100	0
	Las Minas, Herrera	518077/854482; 709		CA	1	0	-	-	-	1	-	-
	Los Santos, Los Santos	564087/877976; 19		CA	30	6	6	0	0	24	100	0
<b>Subtotal</b>					<b>138</b>	<b>77</b>	<b>72</b>	<b>37</b>	<b>0</b>	<b>61</b>	<b>58,4</b>	<b>41,6</b>
<b>Total</b>					<b>319</b>	<b>135</b>	<b>130</b>	<b>40</b>	<b>2</b>	<b>184</b>	<b>72,6</b>	<b>27,4</b>

<sup>a</sup> Número de plantas positivas. Para identificar las especies de begomovirus, se analizaron solamente las muestras que resultaron positivas al género *Begomovirus*. Los virus PepGMV, PHYVV, ToGMoV, ToMiMoV, ToMHaV, ToSLCV y TYLCV no se identificaron en este estudio. Por tanto, estos virus no se incluyeron en el cuadro.

<sup>b</sup> La altitud corresponde a metros sobre el nivel del mar (MSNM).

<sup>c</sup> El porcentaje se calculó en base al número total de plantas infectadas por virus.

<sup>d, e</sup> CC, casa de cultivo; CA, campo abierto. Los sistemas de producción que presentan igual letra del superíndice corresponden a la misma parcela.

### Detección de begomovirus mediante PCR

Se realizó la extracción de ADN total de cada muestra siguiendo el protocolo descrito por Dellaporta *et al.* (1983). Seguidamente, se realizó la detección

de begomovirus mediante PCR según el procedimiento indicado por Rojas *et al.* (1993), utilizando dos parejas de iniciadores degenerados, PAL1v1978/PARc715 y PBL1v2040/PCRc2, los cuales amplifican parcialmente el ADN-A

y el ADN-B de este grupo de virus, respectivamente (Rojas *et al.* 1993). La primera pareja de iniciadores amplifica un fragmento de ~1400 pb, correspondiente a un segmento de la proteína asociada con la replicación (Rep), la región común (CR) completa y un segmento de la proteína de cubierta o cápside (CP), mientras que la segunda pareja de iniciadores amplifica un fragmento de ~500 pb, correspondiente a un segmento de la proteína de movimiento (MP) y la región común (CR) completa (Rojas *et al.* 1993).

#### **Tipificación de begomovirus mediante PCR**

Se realizó la tipificación de begomovirus, a partir de las muestras recolectadas durante el período 2011-2012 que resultaron positivas a este grupo de virus mediante PCR, siguiendo el procedimiento descrito por Nakhla *et al.* (2005) y Herrera-Vásquez *et al.* (2016). Para ello, se utilizó una pareja de iniciadores específicos para cada una de las diez especies de begomovirus (PepGMV, PHYVV, PYMPV, ToGMoV, ToLCSiV, ToMiMoV, ToMHaV, ToSLCV, TYMoV y TYLCV) que infectan tomate en América Central (Engel *et al.* 1998, Nakhla *et al.* 2005). Estas parejas de iniciadores amplifican un segmento de la proteína Rep (Nakhla *et al.* 2005), excepto las parejas de iniciadores para los virus TYLCV y PYMPV, las cuales amplifican

un segmento de la CR y de la proteína CP, respectivamente (Nakhla *et al.* 2005, Herrera-Vásquez *et al.* 2016).

Los productos de PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,2% en tampón 1X TAE (conteniendo 40 mM Tris-acetato y 1 mM de EDTA, pH 8,0) y las bandas de ADN se tiñeron con SYBR® Safe 10000X (Invitrogen, California, USA). Para ello, se programó inicialmente la fuente de poder a 100 voltios y se comenzó a correr la electroforesis durante 45 minutos. Seguidamente, se visualizaron los fragmentos de ADN con la ayuda de un transiluminador de luz UV acoplado a un sistema de imagen digital BioDoc-It® (UVP, California, USA). El tamaño de los fragmentos amplificados se determinó por comparación con un marcador de peso molecular de 100-pb (Amresco, Ohio, USA).

#### **Secuenciación y análisis**

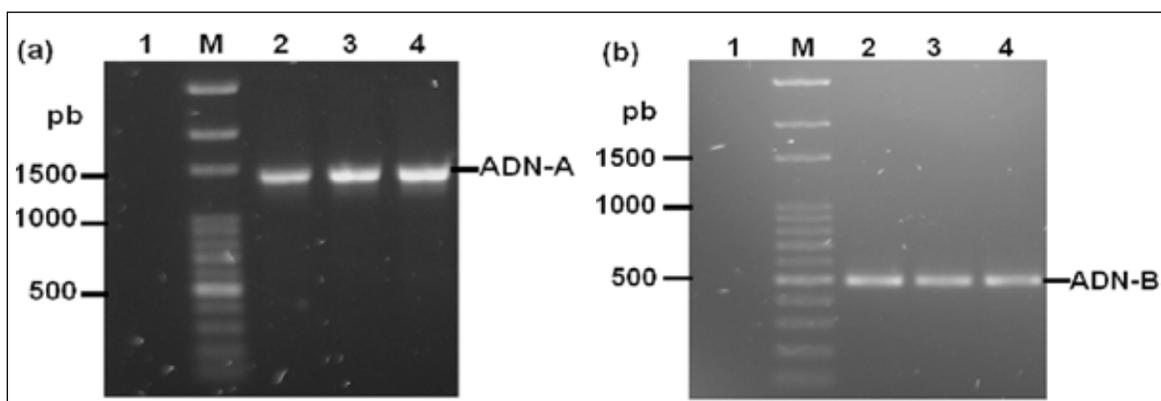
Para confirmar la identidad de los virus PYMPV, ToLCSiV y TYMoV, únicas especies de begomovirus identificadas en este estudio, se secuenciaron dos productos de PCR para cada virus con ayuda del BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v3,0, en un analizador genético ABI Prism 3130XL (Applied Biosystems, California, USA) en el Instituto Smithsonian de Investigaciones

Tropicales (STRI), en Panamá. Las secuencias obtenidas se compararon con secuencias de begomovirus disponibles en la base de datos del GenBank, con la ayuda del instrumento de búsqueda de alineamientos locales básicos (BLAST, Altschul *et al.* 1997). La homología a nivel de secuencia de nucleótidos se obtuvo de la comparación de las secuencias de los virus PYMPV, ToLCSiV y TYMoV en el programa DNAMAN, versión 4.02 Lynnon Biosoft©1994-98 (Institute of Plant Pathology, BBA, Alemania). Las secuencias de los virus PYMPV, ToLCSiV y TYMoV obtenidas en este estudio se depositaron en la base de datos del GenBank bajo los números de acceso KP313716/KP313717, KP318651/KP318652 y KP318653/KP318654, respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Detección de begomovirus mediante PCR

La detección de begomovirus se realizó mediante PCR, utilizando iniciadores degenerados para el ADN-A y el ADN-B. Ciento treinta y cinco (135) muestras de tomate (42,3% del total de muestras recolectadas) (Cuadro 1) mostraron el tamaño de banda esperado de ~1400-pb y ~500-pb para el ADN-A y el ADN-B, respectivamente, mostrado en la electroforesis en gel de agarosa, lo que indica que existe infección por begomovirus bipartitos del Nuevo Mundo (Figura 2). No se observó amplificación cuando se emplearon los controles negativos agua ultrapura estéril o plantas sanas de tomate como molde en los análisis de PCR (Figura 2).



**Figura 2.** Amplificación de fragmentos de PCR de ~1400-pb (a) y ~500-pb (b) correspondientes al ADN-A y al ADN-B de begomovirus, respectivamente. Línea 1, control negativo (planta de tomate sana); Línea 2, control positivo (planta de tomate infectada con begomovirus); Líneas 3-4, muestras de hojas de plantas de tomate cultivadas en campo abierto en las provincias de Los Santos y Herrera en 2011 y 2012, respectivamente; Línea M, marcador de peso molecular de 100-pb (Amresco).

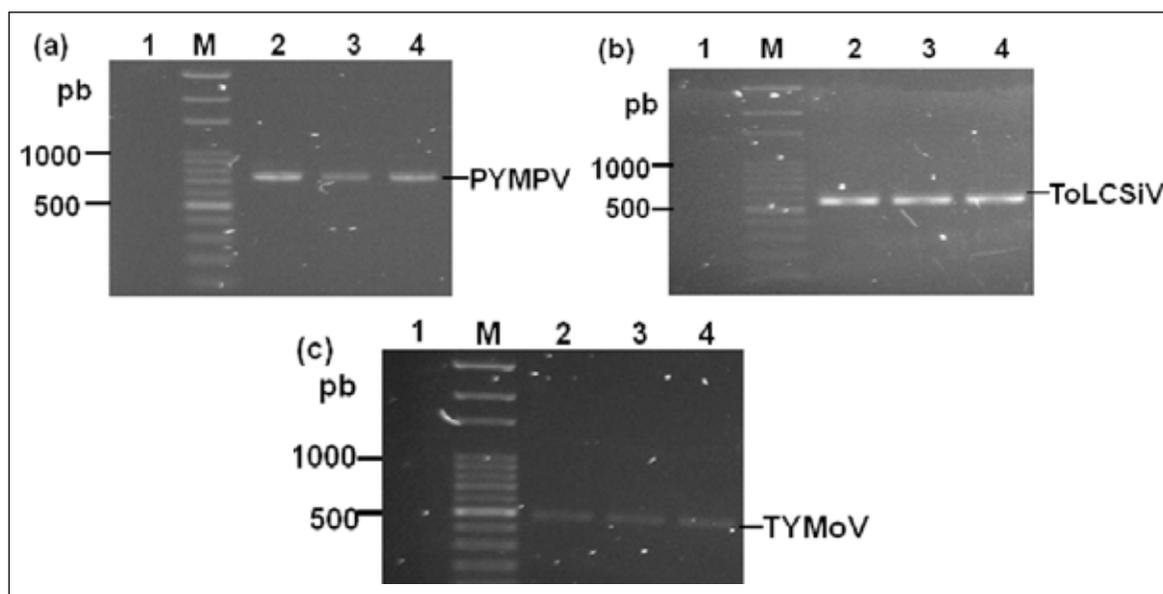
En 2011, se recolectaron 181 muestras en 18 parcelas comerciales de tomate a campo abierto y en casa de cultivo, localizadas en un rango de altitud de 21 a 1185 msnm, para determinar la presencia de begomovirus. Este grupo de virus se detectó en 58 muestras (32,0% del total de muestras recolectadas) procedentes de 12 parcelas (66,7% del total de parcelas visitadas) a campo abierto, localizadas en un rango altitudinal de 21 a 918 msnm, ubicadas en las provincias de Chiriquí, Veraguas, Herrera, Los Santos y Panamá Oeste (Cuadro 1); mientras que en parcelas en casa de cultivo no se detectaron muestras positivas. La provincia de Los Santos presentó la mayor incidencia (80,0%), seguida de las provincias de Veraguas (44,4%), Herrera (40,8%), Chiriquí (13,1%) y Panamá Oeste (11,8%); mientras que en la provincia de Coclé no se detectaron infecciones, probablemente debido al reducido número de muestras (Cuadro 1). Sin embargo, en estudios previos realizados por Engel *et al.* (1998), se reporta la presencia de begomovirus en las provincias centrales de Panamá, incluyendo Herrera, Los Santos y Coclé. Por lo tanto, se requiere analizar un mayor número de muestras en un futuro estudio para determinar la presencia o ausencia de begomovirus en cultivos de tomate en Coclé.

En 2012, se recolectaron 138 muestras en 10 parcelas comerciales de tomate a campo abierto y en casa de cultivo, localizadas en un rango de altitud de 19 a 1543 msnm, para determinar la presencia de begomovirus. Este grupo de virus se detectó en 77 muestras (55,8% del total de muestras recolectadas) procedentes de 9 parcelas (90,0% del total de parcelas visitadas), en ambos sistemas de producción (campo abierto y casa de cultivo), localizadas en el rango de altitud indicado anteriormente, ubicadas en las provincias de Chiriquí, Veraguas, Herrera y Los Santos (Cuadro 1). La provincia de Herrera presentó la mayor incidencia (87,5%), seguida de las provincias de Chiriquí (62,1%), Veraguas (20,0%) y Los Santos (20,0%) (Cuadro 1). En Panamá, se reporta la presencia de begomovirus en cultivos de tomate localizados a baja altitud (<1000 msnm), en las provincias de Herrera, Los Santos y Coclé (Engel *et al.* 1998). Sin embargo, en el presente estudio se presenta la incidencia de begomovirus en las provincias de Chiriquí, Veraguas y Panamá Oeste, y en cultivos de tomate localizados a una altitud mayor (>1000 msnm) que la reportada previamente para este grupo de virus. Por lo tanto, la distribución geográfica de begomovirus determinada en este estudio es más amplia que la reportada anteriormente en Panamá (Engel *et al.* 1998).

### Tipificación de begomovirus mediante PCR

La tipificación de begomovirus se llevó a cabo en las 135 muestras de tomate que mostraron un resultado positivo a este grupo de virus mediante PCR, utilizando iniciadores específicos para las diez especies de begomovirus reportadas en esta hortaliza en América Central (PepGMV, PHYVV, PYMPV, ToGMoV, ToLCSiV, ToMiMoV, ToMHaV, ToSLCV, TYMoV y TYLCV) (Engel *et al.*

1998, Nakhla *et al.* 2005). Se identificaron tres especies de begomovirus (PYMPV, ToLCSiV y TYMoV) en el 100,0% de estas muestras (Cuadro 1), las cuales mostraron el tamaño de banda esperado de 743-pb, 580-pb y 479-pb, respectivamente, tras la electroforesis en gel de agarosa (Figura 3). No se observó amplificación de estos fragmentos en los controles negativos agua ultrapura estéril o plantas sanas de tomate utilizados como molde en los análisis de PCR (Figura 3).



**Figura 3.** Amplificación de fragmentos de PCR de 743-pb (a), 580-pb (b) y 479-pb (c) correspondientes a los virus PYMPV, ToLCSiV y TYMoV, respectivamente. (a) Línea 1, control negativo (planta de tomate sana); Línea 2, control positivo (planta de tomate infectada con el virus PYMPV); Líneas 3-4, muestras de hojas de plantas de tomate cultivadas en campo abierto en la provincia de Los Santos en 2011 y 2012, respectivamente. (b) Línea 1, control negativo (planta de tomate sana); Línea 2, control positivo (planta de tomate infectada con el virus ToLCSiV); Líneas 3-4, muestras de hojas de plantas de tomate cultivadas en campo abierto y en casa de cultivo en la provincia de Chiriquí en 2011 y 2012, respectivamente; (c) Línea 1, control negativo (planta de tomate sana); Línea 2, control positivo (planta de tomate infectada con el virus TYMoV); Líneas 3-4, muestras de hojas de plantas de tomate cultivadas en campo abierto en la provincia de Herrera en 2011; Línea M, marcador de peso molecular de 100-pb (Amresco).

En 2011, se identificó mediante PCR la presencia de infecciones individuales de los virus PYMPV, ToLCSiV y TYMoV en 58 (100,0%), 3 (5,2%) y 2 (3,4%) muestras de tomate, respectivamente (Cuadro 1). Se identificó el virus PYMPV en cinco provincias (Chiriquí, Veraguas, Herrera, Los Santos y Panamá Oeste), mientras que los virus ToLCSiV y TYMoV se identificaron solamente en Chiriquí y en Herrera, respectivamente (Cuadro 1). Los virus PYMPV, ToLCSiV y TYMoV se identificaron en 12 (66,7%), 2 (11,1%) y 2 (11,1%) parcelas de tomate visitadas en las diferentes provincias (Cuadro 1). Las infecciones individuales fueron prevalentes en las provincias visitadas y representaron el 91,4% de las muestras infectadas, mientras que las infecciones mixtas PYMPV/ToLCSiV y PYMPV/TYMoV se identificaron en Chiriquí y Herrera, respectivamente, y representaron el 8,6% de las muestras infectadas (Cuadro 1).

En 2012, se identificó mediante PCR la presencia de infecciones individuales de los virus PYMPV y ToLCSiV en 72 (93,5%) y 37 (48,1%) muestras de tomate, respectivamente (Cuadro 1). Se identificó al virus PYMPV en todas las provincias, mientras que el virus ToLCSiV se identificó solamente en Chiriquí (Cuadro 1). Los virus PYMPV y ToLCSiV se identificaron en 9 (90,0%) y 4 (40,0%) de las parcelas de tomate visitadas en

las diferentes provincias (Cuadro 1). De igual forma que en 2011, las infecciones individuales fueron prevalentes en las provincias visitadas y representaron el 72,6% de las muestras infectadas, mientras que la infección mixta PYMPV/ToLCSiV se identificó solamente en Chiriquí, y la misma representó el 27,4% de las muestras infectadas (Cuadro 1). Las infecciones mixtas de begomovirus se presentan frecuentemente en tomate (Polston y Anderson 1997) y podrían dar lugar a la ocurrencia de nuevas especies de begomovirus, debido al alto potencial de recombinación que existe en este grupo de virus (Davino *et al.* 2012).

En general, la presencia del virus PYMPV se determinó con mayor frecuencia en los cultivos de tomate en Panamá, seguido de los virus ToLCSiV y TYMoV, en el período 2011-2012. En estudios previos realizados por Engel *et al.* (1998), se reporta al virus PYMPV como la única especie de begomovirus que infecta tomate en las provincias centrales de Panamá. Posterior a la década de los 90, no se encontró ninguna investigación sobre este virus en el país. Por lo tanto, el presente estudio constituye el primer reporte de la incidencia y distribución del virus PYMPV en todas las regiones donde se cultiva tomate a campo abierto y en casa de cultivo en Panamá. En relación a los virus ToLCSiV y TYMoV, se identificaron

solamente en Chiriquí (2011 y 2012) y en Herrera (2011), respectivamente. El virus ToLCSiV se reportó previamente en cultivos de tomate en México, Costa Rica, Guatemala y Nicaragua (Ala-Poikela *et al.* 2005, Nakhla *et al.* 2005), mientras que el virus TYMoV se reportó en tomate en Costa Rica (Nakhla *et al.* 2005).

Un total de 184 muestras de tomate que mostraban síntomas similares a los causados por virus, las cuales se recolectaron en diferentes localidades de las provincias citadas anteriormente, resultaron negativas a begomovirus mediante PCR (Cuadro 1). Estas muestras podrían albergar la presencia de otros virus que infectan tomate en distintas regiones de Panamá, como el virus Y de la papa (PVY; género *Potyvirus*, familia *Potyviridae*) (Herrera-Vásquez *et al.* 2009b), virus del mosaico del pepino (CMV; género *Cucumovirus*, familia *Bromoviridae*), virus del torrado del tomate (ToTV; género *Torradovirus*, familia *Secoviridae*) (Herrera-Vásquez *et al.* 2009a), virus del mosaico del tabaco (TMV) y virus del mosaico del tomate (ToMV), ambos pertenecientes al género *Tobamovirus* incluido dentro de la familia *Virgaviridae* (J.A. Herrera-Vásquez, datos no publicados). PVY y CMV se transmiten por áfidos de forma no persistente (Brunt *et al.* 1996), mientras que ToTV se transmite por las moscas blancas *B. tabaci*,

*Trialeurodes vaporariorum* Westwood y *Trialeurodes abutilonea* Haldeman de forma semipersistente (Verbeek *et al.* 2014). En Panamá, se reporta la presencia solamente de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* (Zachrisson y Poveda 1992). TMV y ToMV se transmiten mecánicamente y por semilla (Brunt *et al.* 1996). La presencia o ausencia de estos virus en las muestras que resultaron negativas a begomovirus podría analizarse en un futuro estudio.

### **Análisis de secuencias de begomovirus**

Las secuencias obtenidas en este estudio para cada especie de begomovirus se compararon con las secuencias de nucleótidos publicadas en la base de datos del GenBank. En todos los casos, la secuencia de ADN obtenida resultó ser la esperada. La homología de secuencias entre aislados de los virus PYMPV, ToLCSiV y TYMoV fue de 97,4%, 99,4% y 97,7% en la zona del genoma estudiada, respectivamente.

### **CONCLUSIONES**

- Las prospecciones realizadas en cultivos de tomate en Panamá, revelaron que las infecciones causadas por los virus ToLCSiV y TYMoV son de especial preocupación en las provincias de Chiriquí y Herrera, respectivamente, mientras que las infecciones ocasionadas por el virus PYMPV se encuentran

ampliamente distribuidas en todo el país. Es importante continuar con las prospecciones analizando un mayor y uniforme número de muestras por parcela y año, para determinar la expansión de estos virus en el país.

- Esta información contribuye a la formación de una base para el diseño de estrategias de control, de cara a las epidemias producidas por begomovirus en los cultivos de tomate en Panamá.

### BIBLIOGRAFÍA

- Ala-Poikela, M; Svensson, E; Rojas, A; Horko, T; Paulin, L; Valkonen, JPT; Kvarnheden, A. 2005. Genetic diversity and mixed infections of begomoviruses infecting tomato, pepper and cucurbit crops in Nicaragua. *Plant Pathology* 54:448-459.
- Altschul, SF; Madden, TL; Schaffer, AA; Zhang, J; Zhang, Z; Miller, W; Lipman, DJ. 1997. Gapped BLAST and PSIBLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25:3389-3402.
- Brunt, AA; Crabtree, K; Dallwitz, MJ; Gibbs, AJ; Watson, L; Zurcher, EJ. (eds). 1996. *Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database*. Version: 20th August 1996 (en línea). Consultado 25 sep. 2014. Disponible en <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- Davino, S; Miozzi, L; Panno, S; Rubio, L; Davino, M; Accotto, GP. 2012. Recombination profiles between *Tomato yellow leaf curl virus* and *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* in laboratory and field conditions: evolutionary and taxonomic implications. *Journal of General Virology* 93:2712-2717.
- Dellaporta, S; Woods, H; Hicks, J. 1983. A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:19-21.
- Engel, M; Fernández, O; Jeske, H; Frischmuth, T. 1998. Molecular characterization of a new whitefly-transmissible bipartite geminivirus infecting tomato in Panama. *Journal of General Virology* 79:2313-2317.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, IT). 2017. Base de datos estadísticos FAOSTAT. Consultado 10 oct. 2017. Disponible en <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>
- Hanssen, IM; Lapidot, M; Thomma, BPHJ.

2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 23:539-548.
- Herrera-Vásquez, JA; Alfaro-Fernández, A; Córdoba-Sellés, MC; Cebrián, MC; Font, MI; Jordá, C. 2009a. First report of *Tomato torrado virus* infecting tomato in single and mixed infections with *Cucumber mosaic virus* in Panama. *Plant Disease* 93:198.
- Herrera-Vásquez, JA; Córdoba-Sellés, MC; Cebrián, MC; Alfaro-Fernández, A; Jordá, C. 2009b. First report of *Pepper mild mottle virus* and *Tobacco mild green mosaic virus* infecting pepper in Panama. *Plant Pathology* 58:786.
- Herrera-Vásquez, JA; Ortega, D; Romero, AB; Davino, S; Mejía, LC; Panno, S; Davino, M. 2016. Begomoviruses infecting tomato crops in Panama. *Journal of Phytopathology* 164:102-113.
- Mendoza, G. 2015. Periódico El Siglo, Panamá. Consultado 9 ago. 2017. Disponible en <http://elsiglo.com.pa/economia/tomateros-pierden-50-produccion/23841577>
- Nakhla, M; Sorenson, A; Mejía, L; Ramírez, P; Karkashian, J; Maxwell, D. 2005. Molecular characterization of tomato-infecting begomoviruses in Central America and development of DNA-based detection methods. *Acta Horticulturae* 695:277-288.
- Navas-Castillo, J; Fiallo-Olivé, E; Sánchez-Campos, S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219-248.
- Polston, JE; Anderson, PK. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. *Plant Disease* 81:1358-1369.
- Rojas, MR; Gilbertson, RL; Russell, DR; Maxwell, DP. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease* 77:340-347.
- Verbeek, M; van Bekkum, PJ; Dulleman, AM; van der Vlugt, RA. 2014. Torradoviruses are transmitted in a semipersistent and stylet-borne manner by three whitefly vectors. *Virus Research* 186:55-60.

Zachrisson, B; Poveda J. 1992. Las moscas blancas en Panamá. *In* Hilje, L; Arboleada, O. (eds). Las moscas blancas (*Homoptera: Aleyrodidae*) en América Central y el Caribe. CATIE. Turrialba, CR. pp. 64-66.

### **AGRADECIMIENTO**

Los autores expresan su agradecimiento al Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria (FONTAGRO) y a la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT) por

el financiamiento de esta investigación, a través de los proyectos FTG-7086/07/2007 y 31-2011-4-ITE-002, respectivamente. El Dr. J.A. Herrera-Vázquez recibió apoyo de la SENACYT a través del Sistema Nacional de Investigación (SNI). Finalmente, queremos agradecer al personal técnico de la Dirección Nacional de Sanidad Vegetal (DNSV) del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA) y del IDIAP, así como a los productores de tomate de Panamá por su apoyo y hospitalidad.