

Figura 1. Síntomas asociados a ToLCNDV en plantas de calabacín en cultivos comerciales.

**M.P. Rabadán,
M.A. Aranda y
P. Gómez**

Centro de Edafología
y Biología Aplicada
del Segura (CEBAS)-
CSIC, Departamento
de Biología del Estrés
y Patología Vegetal,
Espinardo, Murcia,
España.

M. Juárez

Escuela Politécnica
Superior de Orihuela,
Universidad Miguel
Hernández de Elche,
Orihuela, Alicante,
España.

M. Tayahi

Laboratory of Molecular
Genetics, Immunology
and Biotechnology,
Faculty of Sciences
of Tunis, Campus
University, El Manar,
Túnez.

El Virus del rizado del tomate de Nueva Delhi (ToLCNDV) en cultivos y malas hierbas

En España, el Virus del rizado del tomate de Nueva Delhi (*Tomato leaf curl New Delhi virus*, ToLCNDV) se detectó por primera vez en Murcia en plantas de calabacín en el año 2012, y posteriormente su incidencia fue incrementando progresivamente incluyendo nuevos cultivos de cucurbitáceas (melón, calabaza y pepino), alcanzando otras comarcas del Sur, Este y Centro peninsular. ToLCNDV pertenece al género *Begomovirus*, familia *Geminiviridae*, con un genoma de ADN circular y bipartito, y es transmitido entre plantas por la mosca blanca *Bemisia tabaci*. En este artículo se describe la gama de huéspedes y sintomatología de ToLCNDV en plantas cultivadas y silvestres, incluyendo su epidemiología molecular desde 2012 a 2016 en la Región de Murcia. En total se han analizado 550 muestras procedentes de trece especies de plantas sintomáticas, cultivadas al aire libre e invernadero, y 298 muestras de 24 especies de plantas arvenses. ToLCNDV se detectó en todas las plantas de las especies cultivadas de la familia de las cucurbitáceas, excepto en sandía, y también fue detectado en siete muestras de tomate de 46 analizadas. Entre las muestras de especies arvenses, se encontraron cuatro especies de huéspedes: *Solanum nigrum*, ya descrito anteriormente, y *Echallium elaterium*, *Datura stramonium* y *Sonchus oleraceus*, como tres nuevos huéspedes para ToLCNDV. Por otra parte, los análisis de los genomas completos de treinta aislados de ToLCNDV determinados por secuenciación masiva y procedentes de plantas cultivadas y malas hierbas indican que las poblaciones de ToLCNDV son genéticamente muy homogéneas, y diferenciadas de lo descrito hasta ahora para las poblaciones de ToLCNDV caracterizadas en cultivos de países asiáticos (Para ampliar información sobre el artículo consultar la referencia: Juárez M., y col., 2019).

La producción de hortalizas se enfrenta constantemente a nuevas plagas y enfermedades que reducen significativamente el rendimiento de los cultivos y la calidad de sus productos. Los daños ocasionados por enfermedades emergentes provocadas por agentes de etiología viral tienen una especial importancia, ya que normalmente no se dispone de medidas para su prevención y control. La introducción del Virus del rizado del tomate de Nueva Delhi (*Tomato leaf curl New Delhi virus*, ToLCNDV) en los cultivos de cucurbitáceas (calabacín, melón, calabaza y pepino) del Sureste español supone un caso relativamente reciente. La primera descripción de ToLCNDV fue en 1995 en India como causa de una enfermedad de tomate (Srivastava y col., 1995). ToLCNDV pertenece al género *Begomovirus* (familia *Geminiviridae*) y es transmitido por mosca blanca (*Bemisia tabaci*) de forma circulativa y persistente (Brown y col., 2012). En principio se trataba de un virus geográficamente confinado al Subcontinente Indio, pero que ha ido extendiéndose hacia otras zonas de Asia, incluyendo China y el Oriente Medio, y afectando a un gran número de cultivos de solanáceas y cucurbitáceas, entre otros (Hussain y col., 2004; Maruthi y col., 2005; Ito y col., 2008; Mizutani y col., 2011). En el año 2015, la Organización Europea y Mediterránea de Protección Fitosanitaria (EPPO) introdujo a ToLCNDV en su lista de alertas (EPPO, 2015) debido al elevado riesgo para cultivos de gran importancia económica en la Cuenca Mediterránea.

La primera detección de ToLCNDV en España se hizo sobre plantas de calabacín procedentes de los cultivos de Campo de Cartagena (Murcia) y de Almería (Juárez y col., 2013). Los síntomas que se identificaron en las plantas de calabacín procedentes de cultivos al aire libre e invernaderos incluyeron: en plantas en producción y cuando la infección había sido tardía, las hojas jóvenes estaban rizadas y acucharadas normalmente hacia el envés aunque a veces también hacia el haz (A y B (Figura 1)), y podía aparecer un amarilleo muy intenso incluyendo hasta la hojas más jóvenes, la planta detenía su crecimiento (Figura 1 C), y sobre los frutos se podía observar una rizadura suave en la piel del fruto joven más acusada en los más

desarrollados (Figura 1 D). Cuando la infección había sido temprana, el rizado y deformación de las hojas jóvenes era tan intenso que se parecía al que causa una infestación fuerte por pulgones (Figura 1 E); las plántulas estaban achaparradas y habían parado su crecimiento, quedando gravemente afectadas y totalmente improductivas (Figura 1 F).

ToLCNDV tiene un genoma de ADN circular de cadena sencilla y bipartito, cuyos componentes (A y B) tienen un tamaño similar y aproximado a 2,7Kb separados por una región intergénica no codificante con forma de horquilla (Padidam y col., 1995). El ADN-A incluye dos genes en sentido viral o codificante (AV1 y AV2), y cuatro genes en sentido de la cadena complementaria AC1 (Rep), AC2 (Trap), AC3 (REn) y AC4 (Padidam y col., 1996; Ooi y col., 1997). En el ADN-B se encuentra un gen en sentido viral, BV1 (NSP), y otro gen en sentido antiviral, BC1 (MP) (Fondong, 2013; Zaidi y col., 2017). Además de estos dos componentes genómicos, se ha demostrado que al menos algunos aislados de ToLCNDV tienen asociados DNAs satélites de cadena sencilla, circulares, de aproximadamente 1,3 Kb.

Al igual que ocurre con otros virus pertenecientes al mismo género (Navas-Castillo y col., 2013), ToLCNDV representa un gran riesgo económico para el sector agrícola por causar importantes pérdidas en la calidad y producción de los cultivos afectados. Hasta el momento, han sido identificadas 43 especies de plantas susceptibles de ser infectadas por ToLCNDV, causando enfermedades de relevancia en cultivos importantes como la patata (Usharani y col., 2004) o la berenjena (Pratap y col., 2011). Asimismo, no solo las plantas cultivadas sino también las plantas silvestres o malas hierbas son capaces de albergar una gran diversidad de begomovirus, contribuyendo a la prevalencia y distribución espacial y temporal del virus en los cultivos (Ooi y col., 1997; Luis-Arteaga y col., 1998; García-Andrés y col., 2007; Kassem y col., 2013).

De los estudios realizados con ToLCNDV fuera de España, la gama de huéspedes de este virus parecía al principio estar esencialmente limitada a solanáceas, incluyendo tomate (Padidam y col., 1995), pimiento (chile

(Hussain y col., 2004), patata (Usharani y col., 2004) y berenjena (Dharmendra y col., 2011), en donde era una de las causas de la enfermedad que nosotros conocemos como 'cuchara'. Más adelante se observó que este virus también causaba una enfermedad que provocaba graves pérdidas en cultivos de cucurbitáceas, incluyendo pepino, melón, calabaza, luffa y calabacín (Muniyappa y col., 2003; Mandal y col., 2004; Ito y col., 2008). En la actualidad se sabe que el virus puede infectar hasta 43 especies de plantas, tanto cultivadas como malas hierbas, pertenecientes a varias familias, que incluyen además de las cucurbitáceas y solanáceas, a malváceas, euforbiáceas y fabáceas (Zaidi y col., 2017).

Tras la primera detección de ToLCNDV en Murcia y Almería (Juárez y col., 2013), ToLCNDV también fue detectado en cultivos de tomate en Almería (Ruiz y col., 2014), y más tarde en cultivos de calabacín en Túnez (Mnari-Hattab y col., 2015), en Italia (Panno y col., 2016) y en Marruecos (Radouane y col., 2018). La caracterización biológica y molecular de algunos aislados de ToLCNDV indica que hay una clara diferenciación entre los aislados asiáticos y españoles, con una alta homología genética entre los aislados españoles (Fortes y col., 2016; Ruiz y col., 2017). Esto sugiere un efecto fundador producido por la emergencia y colonización de un nuevo patógeno en una nueva zona geográfica (García-Andrés y col., 2007; Moriones y col., 2017).

Detección de ToLCNDV en cultivos hortícolas y malas hierbas

En cultivos de cucurbitáceas

A partir de la campaña de 2013, en la que empezaron a extenderse las epidemias causadas por ToLCNDV, nuestro equipo comenzó a tomar muestras de cultivos de calabacín, melón, calabaza, pepino y sandía en distintas localidades de las provincias de Murcia y Alicante. Las muestras se recogieron durante las campañas de 2014, 2015 y 2016, fueron analizadas para la detección del virus por hibridación molecular de impresiones de secciones de peciolo (*tissue print*). La práctica totalidad de las muestras fueron positivas, excepto para sandía, en la que no se

transferencia tecnológica

| hortícolas |

observaron síntomas pero se tomaron muestras para descartar la posibilidad de infecciones asintomáticas (Tabla 1). Entre las 43 muestras de sandía analizadas, quince eran procedentes de plantas de sandía injertada en pie híbrido de calabaza y que presentaban rebrotes en el pie. Se analizaron quince muestras de los rebrotes del pie de calabaza y todas fueron positivas para ToLCNDV. Todos los rebrotes presentaban una fuerte sintomatología característica de la enfermedad.

En otros cultivos hortícolas (no cucurbitáceas)

Desde el comienzo de las epidemias de ToLCNDV en los cultivos de cucurbitáceas sospechamos la existencia de otros huéspedes que pudieran jugar un papel importante en el ciclo de la enfermedad actuando como posibles fuentes o reservorios de inóculo del virus. Para analizar esta posibilidad, muestreamos cultivos de tomate, berenjena, pimiento, patata, lechuga, apio, judía y haba (Tabla 1); las muestras fueron también analizadas por hibridación molecular.

Las muestras de pimiento, berenjena y patata fueron negativas para ToLCNDV. Estas mismas especies han sido citadas como especies susceptibles a ToLCNDV en otros países. En tomate aparecieron siete muestras positivas de 46 (15%), tres de ellas en plantas asintomáticas y cuatro en infección mixta con TYLCV (Virus de la cucharra del tomate). En el resto de cultivos como lechuga, apio, judía y haba, todas las muestras analizadas frente a ToLCNDV fueron negativas.

En especies de malas hierbas

Se recolectaron muestras de 25 especies de malas hierbas que se muestran ordenadas por familias en la Tabla 2. Esta recolección se llevó a cabo durante la campaña verano-otoño de 2014, 2015 y 2016 en tres parcelas de cultivo de calabacín y melón donde ToLCNDV fue prevalente. Estas parcelas se eligieron al azar en tres zonas de la Comarca de Campo de Cartagena (Fuente Álamo, Pozo Estrecho y Balsicas). La toma de muestras en campo se realizaba al azar en las parcelas seleccionadas para el muestreo, y de cada especie se elegían plantas con algún tipo de sintomatología (clorosis, amarilleo, mosaico, falta de

Familias	Especies	Nº muestras analizadas	Nº muestras positivas
<i>Cucurbitaceae</i>	Melón	144	144
<i>Cucurbitaceae</i>	Calabacín	143	143
<i>Cucurbitaceae</i>	Calabaza	12	12
<i>Cucurbitaceae</i>	Pepino	28	24
<i>Cucurbitaceae</i>	Sandía	43	0
<i>Solanaceae</i>	Pimiento	47	0
<i>Solanaceae</i>	Berenjena	37	0
<i>Solanaceae</i>	Patata	16	0
<i>Solanaceae</i>	Tomate	46	7
<i>Asteraceae</i>	Lechuga	7	0
<i>Apiaceae</i>	Apio	6	0
<i>Fabaceae</i>	Judía	9	0
<i>Fabaceae</i>	Haba	12	0
TOTAL		550	330

Tabla 1. Muestras totales de diferentes especies de plantas cultivadas al aire libre e invernadero de 2012-2016 en la Región de Murcia.

Familia	Especies Silvestres	Nº muestras analizadas	Nº muestras positivas
<i>Amarantaceae</i>	<i>Amaranthus blitoides</i>	18	0
<i>Amarantaceae</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i>	6	0
<i>Asteraceae</i>	<i>Chrysanthemum coronarium</i>	6	0
<i>Asteraceae</i>	<i>Senecio vulgaris</i>	11	0
<i>Asteraceae</i>	<i>Coryza bonariensis</i>	7	0
<i>Asteraceae</i>	<i>Sonchus oleraceus</i>	29	2
<i>Asteraceae</i>	<i>Chrysanthemum coronarium</i>	6	0
<i>Boraginaceae</i>	<i>Echium plantagineum</i>	5	0
<i>Boraginaceae</i>	<i>Heliotropium europaeum</i>	12	0
<i>Brassicaceae</i>	<i>Cardaria draba</i>	9	0
<i>Brassicaceae</i>	<i>Moricandia arvensis</i>	5	0
<i>Brassicaceae</i>	<i>Sinapis arvensis</i>	5	0
<i>Quenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium album</i>	19	0
<i>Quenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium murale</i>	20	0
<i>Convolvulaceae</i>	<i>Convolvulus arvensis</i>	7	0
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Echallium elaterium</i>	32	27
<i>Geraniaceae</i>	<i>Erodium chium</i>	3	0
<i>Malvaceae</i>	<i>Abutilon theophrasti</i>	15	0
<i>Malvaceae</i>	<i>Malva spp.</i>	13	0
<i>Portulacaceae</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	4	0
<i>Solanaceae</i>	<i>Datura stramonium</i>	31	22
<i>Solanaceae</i>	<i>Nicotiana glauca</i>	12	0
<i>Solanaceae</i>	<i>Solanum nigrum</i>	20	7
<i>Urticaceae</i>	<i>Urtica urens</i>	6	0
<i>Poaceae</i>	<i>Setaria viridis</i>	3	0
TOTAL		298	58

Tabla 2. Muestras totales de malas hierbas de 2012-2016 en la Región de Murcia.

Spyrit[®] Pro

INNOVACIÓN PARA EL CONTROL DE MILDIU

PATATA



**LECHUGA Y
SIMILARES**

www.ascenza.es



ASCENZA[®]



transferencia tecnológica

| hortícolas |

desarrollo, etc.) y otras asintomáticas. Se analizaron 298 muestras de entre las 24 especies más frecuentes en los cultivos y sus alrededores (márgenes y zonas cercanas no cultivadas) y se analizaron por diferentes técnicas (hibridación molecular, ELISA y PCR).

Se encontraron cuatro especies arvenses con muestras positivas para ToLCNDV (Tabla 2) (Figura 2). Una de ellas muy extendida entre nuestros cultivos, la solanácea *Solanum nigrum*, que ha sido citada como huésped ToLCNDV en zonas de cultivo de Asia. También entre la familia de las solanáceas hemos encontrado otro reservorio frecuente entre nuestros cultivos: *Datura stramonium*. Ambas suelen estar colonizadas por poblaciones de *Bemisia tabaci*, y por tanto pueden jugar un papel importante en la persistencia y difusión de ToLCNDV en las zonas de cultivo. También se ha encontrado en la familia de las cucurbitáceas a un nuevo huésped no cultivado, *Ecballium elaterium* (27 muestras positivas de 32 analizadas). *E. elaterium* es una planta arvense, perenne, muy vivaz y ampliamente establecida en nuestro entorno, que probablemente no esté desempeñando un papel importante como reservorio y fuente de inóculo del virus, al ser una planta poco preferida o frecuentada por *Bemisia tabaci*. Por último, también nos encontramos infección en una asterácea, 'la cerraja o cerrajón' *Sonchus oleraceus* con una tasa muy baja (dos muestras positivas de 39 analizadas); las dos plantas positivas se encontraban en condiciones de mucha presión de inóculo y alta temperatura en invernadero.

En general, cabe señalar el importante papel que pueden jugar estas especies como fuentes de inóculo al estar ampliamente extendidas entre la flora espontánea de nuestro entorno, solapando sus ciclos con los diferentes ciclos de cultivo de cucurbitáceas. También hemos observado que aunque la gama de huéspedes determinada hasta ahora no es muy amplia en número de especies, sí que es muy diversa en cuanto al parentesco entre las tres familias botánicas (cucurbitáceas, solanáceas y asteráceas).

Así pues, los estudios abordados por nuestro equipo sugieren que los aislados españoles de ToLCNDV afectan esencialmente a calabacín, melón, calabaza y pepino. Sin embargo, con

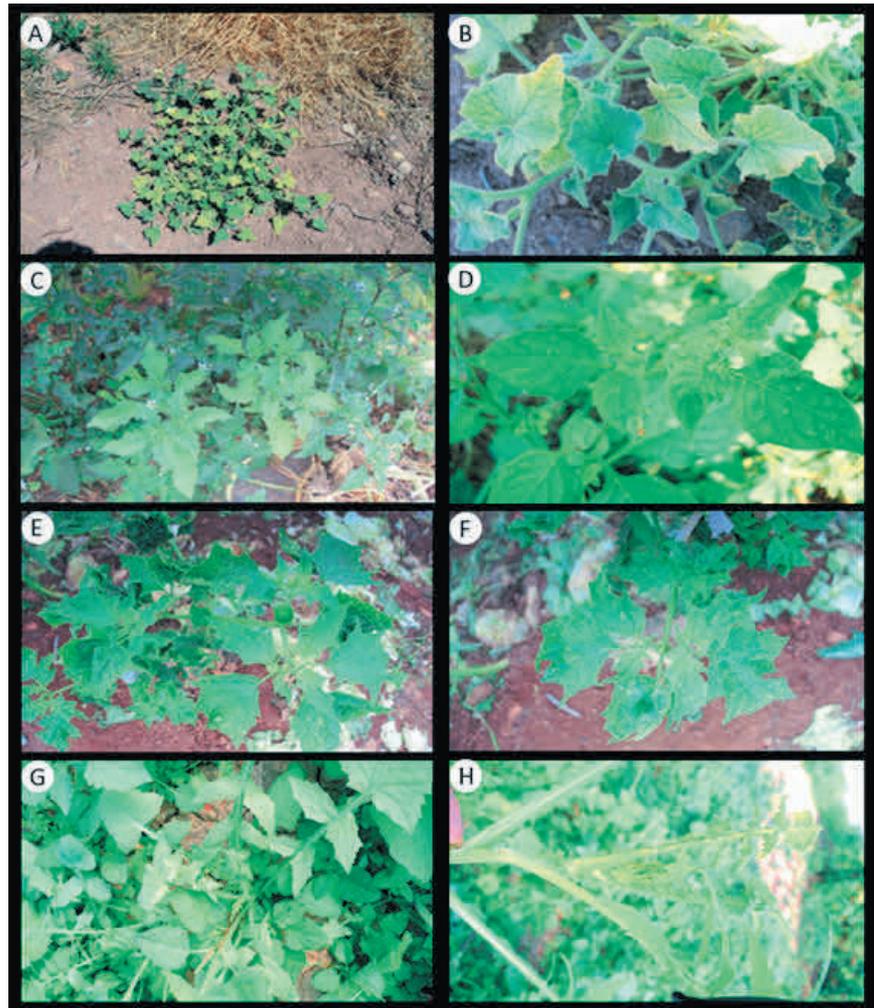


Figura 2. Plantas de especies de malas hierbas con sintomatología asociada a ToLCNDV. A y B: *Ecballium elaterium*; C y D: *Solanum nigrum*; E y F: *Datura stramonium*; G y H: *Sonchus oleraceus*.

nuestro muestreo de plantas silvestres hemos determinado que plantas de otras familias pueden estar infectadas por el virus. Por tanto, la gama de posibles huéspedes de ToLCNDV puede ser amplia, implicando la potencial existencia de fuente de inóculo abundante en el campo durante todo el año, dadas las condiciones climatológicas suaves que se dan en nuestro entorno productivo que permiten el desarrollo del vector transmisor y especies reservorios del virus.

Epidemiología molecular de ToLCNDV en cultivos y malas hierbas

Con el propósito de describir la estructura y variabilidad genética de las poblaciones de ToLCNDV muestreadas a lo largo de las diferentes campañas, huéspedes y zonas productoras en España desde que este virus fue identificado, analizamos la variabilidad genética de un conjunto de treinta aislados

compuestos por 16 aislados procedentes de calabacín, siete de melón, dos de pepino, dos de calabaza, dos de *D. stramonium* y uno de tomate. En primer lugar, el genoma de estos aislados fue amplificado mediante la técnica de círculo rodante, confirmando por digestión enzimática el tamaño del fragmento linealizado de ADN. A continuación, el genoma de cada aislado fue secuenciado por la tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS).

El análisis filogenético de las secuencias consenso de ambos componentes genómicos (A y B) muestra que los aislados españoles están muy relacionados genéticamente (Figura 3). Además, el análisis de diversidad genética revela que las mutaciones identificadas en los genomas de estos aislados tienen una frecuencia baja, de manera que las identidades nucleotídicas son muy elevadas (>95%) entre aislados, y sugiere que la población de ToLCNDV es muy homogénea

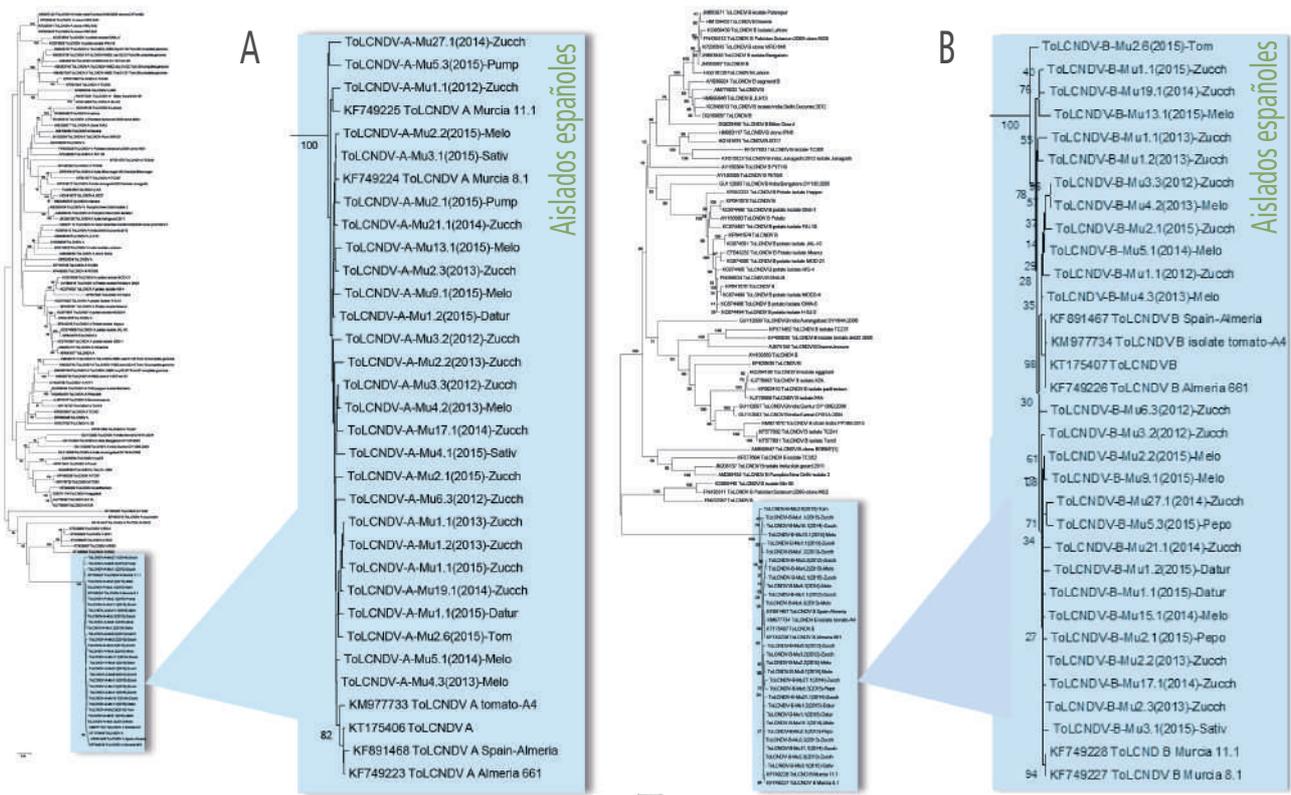


Figura 3. Árbol filogenético determinado por el método de Mínima evolución basado en el alineamiento de los componentes genómicos A y B de 30 aislados de ToLCNDV procedentes de la Región de Murcia. El análisis fue realizado con el programa MEGA5 y las relaciones de las ramas fueron calculadas con un bootstrap de 1000 repeticiones, donde se incluyeron 102 y 64 secuencias de referencias disponibles en la base de datos (NCBI) para el análisis del genoma A y B, respectivamente.

en los cultivos de la Región de Murcia. Esta escasa diversidad poblacional se ha descrito para otros virus, incluyendo begomovirus (Sánchez-Campos y col., 2002), y suele corresponder a un efecto fundador como la colonización o introducción de una sola especie patógena que se ha expandido rápida y eficientemente en la población huésped. Estos resultados coinciden con un reciente estudio que incluye aislados de Málaga, Almería y Murcia procedentes de plantas sintomáticas de calabacín y melón, en el que se sugiere que la población de ToLCNDV es genéticamente uniforme tras un análisis de patrones de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (Fortes y col., 2016).

Además, según los criterios de demarcación de especies de begomovirus propuestos por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (Brown y col., 2015), y de manera similar al estudio antes mencionado (Fortes y col., 2016), la comparación de las secuencias completas de los genomas A de nuestros aislados españoles con las secuencias de aislados procedentes de cultivos de países asiáticos disponibles en la base de datos resultó en una clara

diferenciación entre ambos grupos. De manera que los aislados españoles han sido propuestos como una nueva cepa cuyo nombre es ToLCNDV-ES (Fortes y col., 2016; Moriones y col., 2017).

Todos estos resultados sugieren que los aislados españoles de ToLCNDV pertenecen a un mismo genotipo (ES), el cual parece estar distribuido uniformemente entre los cultivos huéspedes del Sureste español. No obstante, es posible que de la misma forma o vía que emergió la cepa ES, emerjan otras que puedan desplazar a la presente, o incluso establecer procesos de recombinación que generen alguna variante con alguna ventaja selectiva (Lefeuve and Moriones, 2015), y entonces, se produzca un cambio en la dinámica evolutiva de ToLCNDV y epidemiología de la enfermedad. Como un buen ejemplo tenemos la problemática causada por la emergencia de virus asociados a la enfermedad del rizado amarillo del tomate (*Tomato yellow leaf curl disease*, TYLCD). Esta enfermedad fue descrita por primera vez en Israel en 1929 asociada al aumento de la población de su vector (mosca blanca) y la dispersión de esta enfermedad alcanzó un nivel epidémico en

los cultivos de tomate (Moriones and Navas-Castillo, 2000; Diaz-Pendon y col., 2010; Lefeuve y col., 2010). En España, desde la primera especie asociada a la enfermedad (TYLCSV (Sardinia)) (Sánchez-Campos y col., 1999), la entrada de otras cepas (TYLCV-Mld (Mild) o -IL (Israel)) y variantes recombinantes (TYLCMaV (Malaga) o TYLCAxV (Axarquía)) ha ido alterando la dinámica de la enfermedad (Monci y col., 2002; Garcia-Andres y col., 2007a; Garcia-Andres y col., 2007b).

Así pues, considerando esta potencial problemática sobre los cultivos agrícolas, resulta necesario establecer continuos planes de prospección y muestreo, incluyendo nuevas zonas geográficas, que nos permitan tener una amplia visión epidemiológica de la enfermedad, conocer en detalle la estructura y variabilidad genética de ToLCNDV y determinar posibles factores que favorezcan la emergencia de nuevas variantes virales con el fin de ayudar al desarrollo de estrategias estables y eficaces para el control de la enfermedad.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto INIA: RTA 2013-00020-004-02.

Bibliografía

- !** Brown J. K., Zerbini F. M., Navas-Castillo J., et al. (2015) Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology*, **160**, 1593-1619.
- Díaz-Pendón J. A., Canizares M. C., Moriones E., et al. (2010) Tomato yellow leaf curl viruses: manage a trois between the virus complex, the plant and the whitefly vector. *Mol Plant Pathol*, **11**, 441-450.
- Dharmendra P., Ashwin R.K. and Sunil K.M. 2011. Molecular characterization and infectivity of a Tomato leaf curl New Delhi virus variant associated with newly emerging yellow mosaic disease of eggplant in India. *Virology Journal* 8:305.
- EPP0. (2015) Tomato leaf curl New Delhi virus. Reporting Service no. 06 - 2015 Num. article: 2015/114. <https://gd.eppo.int/reporting/article-4779>
- Fondong V. N. (2013) Geminivirus protein structure and function. *Molecular Plant Pathology*, **14**, 635-649.
- Fortes I., Sánchez-Campos S., Fiallo-Olivé E., et al. (2016) A Novel Strain of Tomato Leaf Curl New Delhi Virus Has Spread to the Mediterranean Basin. *Viruses*, **8**, 307.
- García-Andrés S., Accotto G. P., Navas-Castillo J., Moriones E. (2007a) Founder effect, plant host, and recombination shape the emergent population of begomoviruses that cause the tomato yellow leaf curl disease in the Mediterranean basin. *Virology*, **359**, 302-312.
- García-Andrés S., Tomas D. M., Sanchez-Campos S., et al. (2007b) Frequent occurrence of recombinants in mixed infections of tomato yellow leaf curl disease-associated begomoviruses. *Virology*, **365**, 210-219.
- García-Andrés S., Accotto G. P., Navas-Castillo J., Moriones E. (2007) Founder effect, plant host, and recombination shape the emergent population of begomoviruses that cause the tomato yellow leaf curl disease in the Mediterranean basin. *Virology*, **359**, 302-312.
- García-Arenal F., McDonald B. A. (2003) An analysis of the durability of resistance to plant viruses. *Phytopathology*, **93**, 941-952.
- Hussain M., Mansoor S., Iram S., et al. (2004) First report of Tomato leaf curl New Delhi affecting chilli pepper in Pakistan. *Plant Pathology*, **53**, 794.
- Ito T., Sharma P., Kittipakorn K., Ikegami M. (2008) Complete nucleotide sequence of a new isolate of tomato leaf curl New Delhi virus infecting cucumber, bottle gourd and muskmelon in Thailand. *Archives of Virology*, **153**, 611-613.
- Juárez M., Tovar R., Fiallo-Olivé E., et al. (2013) First Detection of Tomato leaf curl New Delhi virus Infecting Zucchini in Spain. *Plant Disease*, **98**, 857-857.
- Juárez M., Rabadán M.P., Díaz-Martínez L., Tayahi M., Grande-Pérez A. and Gómez P. (2019). Natural hosts and genetic diversity of the emerging tomato leaf curl New Delhi virus in Spain. *Frontiers in Microbiology*, doi: 10.3389/fmicb.2019.00140.
- Kassem M., Juárez M., Gómez P., et al. (2013) Genetic diversity and potential vectors and reservoirs of Cucurbit aphid-borne yellows virus in southeastern Spain. *Phytopathology*, **103**, 1188-1197.
- Kassem M. A., Sempere R. N., Juárez M., et al. (2007) Cucurbit aphid-borne yellows virus is prevalent in field-grown Cucurbit Crops of Southeastern Spain. *Plant Disease*, **91**, 232-238.
- Lefevre P., Martin D. P., Harkins G., et al. (2010) The Spread of Tomato Yellow Leaf Curl Virus from the Middle East to the World. *PLoS Pathog*, **6**, e1001164.
- Lefevre P., Moriones E. (2015) Recombination as a motor of host switches and virus emergence: geminiviruses as case studies. *Curr Opin Virol*, **10**, 14-19.
- Luis-Arteaga M., Álvarez J. M., Alonso-Prados J. L., et al. (1998) Occurrence, distribution, and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown melon in Spain. *Plant Dis*, **82**, 979-982.
- Mandal, B., Mandal, S., Sohrab, S. S., Pun, K. B., & Varma, A. (2004). A new yellow mosaic disease of hayote in India. *Plant Pathology*, **53**, 797.
- Maruthi M. N., Rekha A. R., Cork A., et al. (2005) First report of Tomato leaf curl New Delhi virus infecting tomato in Bangladesh. *Plant Disease*, **89**, 1011.
- Mizutani T., Daryono B., Ikegami M. (2011) First report of Tomato leaf curl New Delhi virus infecting cucumber in Central Java, Indonesia. *Plant*, 5197.
- Mnari-Hattab M., Zammouri S., Belkadhi M., et al. (2015) First report of Tomato leaf curl New Delhi virus infecting cucurbits in Tunisia. *New Disease Reports*, **31**.
- Monci F., Sánchez-Campos S., Navas-Castillo J., Moriones E. (2002) A natural recombinant between the geminiviruses Tomato yellow leaf curl Sardinia virus and Tomato yellow leaf curl virus exhibits a novel pathogenic phenotype and is becoming prevalent in Spanish populations. *Virology*, **303**, 317-326.
- Moriones E., Navas-Castillo J. (2000) Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Res*, **71**, 123-134.
- Moriones E., Praveen S., Chakraborty S. (2017) Tomato Leaf Curl New Delhi Virus: An Emerging Virus Complex Threatening Vegetable and Fiber Crops. *Viruses*, **9**.
- Ooi K., Ohshita S., Ishii I., Yahara T. (1997) Molecular phylogeny of geminivirus infecting wild plants in Japan. *Journal of Plant*

- Panno S., Iacono G., Davino M., et al. (2016) First report of <i>Tomato leaf curl New Delhi virus</i> affecting zucchini squash in an important horticultural area of southern Italy. *New Disease Reports*, **33**, 6.
- Pratap D., Kashikar A. R., Mukherjee S. K. (2011) Molecular characterization and infectivity of a Tomato leaf curl New Delhi virus variant associated with newly emerging yellow mosaic disease of eggplant in India. *Virology Journal*, **8**, 305.
- Padidam, M., Beachy, R. N. and Fauquet, C. M. (1995). Tomato leaf curl geminivirus from India has a bipartite genome and coat protein is not essential for infectivity. *J. Gen. Virol.* 76, 25–35.
- Padidam, M., Beachy, R. N. and Fauquet, C. M. (1996). The role of AV2 (“precoat”) and coat protein in viral replication and movement in tomato leaf curl geminivirus. *Virology* 224, 390–404.
- Radouane N., Tahiri A., El Ghadraoui L., Al Figuigui J. and Iahlali R. 2018. First report of *Tomato Leaf Curl New Delhi virus* in Morocco. *New Disease Reports* 37, 2. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2018.037.002>.
- Ruiz L., Simon A., Velasco L., Janssen D. (2017) Biological characterization of Tomato leaf curl New Delhi virus from Spain. *Plant Pathology*, **66**, 376-382.
- Ruiz M. L., Simón A., Velasco L., et al. (2014) First Report of Tomato leaf curl New Delhi virus Infecting Tomato in Spain. *Plant Disease*, **99**, 894-894.
- Sánchez-Campos S., Navas-Castillo J., Camero R., Soria C., Díaz, J. A., Moriones, E. (1999) Displacement of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)-Sr by TYLCV-Is in tomato epidemics in Spain. *Phytopathology*, **89**, 1038-1043.
- Sánchez-Campos S., Díaz J. a., Monci F., et al. (2002) High Genetic of the Begomovirus Tomato yellow leaf curl Sardinia virus in Southern Spain Over an 8-Year Period. *Phytopathology*, **92**, 842-849.
- Seal S. E., VandenBosch F., Jeger M. J. (2006) Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: Implications for sustainable control. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **25**, 23-46.
- Usharani K. S., Surendranath B., Paul-Khurana, et al. (2004) Potato leaf curl - A new disease of potato in northern India caused by a strain of Tomato leaf curl New Delhi virus. *Plant Pathology*, **53**, 235.
- Zaidi S. S. E. A., Martin D. P., Amin I., et al. (2017) Tomato leaf curl New Delhi virus: a widespread bipartite begomovirus in the territory of monopartite begomoviruses. *Molecular Plant Pathology*, **18**, 901-911.

Equilibrium®

b BIOIBERICA
PLANT PHYSIOLOGY

Bioestimulante de acción sinérgica para un cuajado equilibrado



- ✓ Mejor regulación fitohormonal de la planta.
- ✓ Optimización de los proceso de división celular y movilización de reservas.
- ✓ Mantiene su equilibrio fisiológico actuando en los órganos en crecimiento.
- ✓ Producto natural y ecológico.

