

NUEVOS BROTES DE BEGOMOVIRUS EN COLOMBIA

Francisco J. Morales, Ana K. Martínez, y Ana C. Velasco

Unidad de Virología, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), A.A. 6713, Cali, Colombia;
Correo electrónico f.morales@cgiar.org

RESUMEN

Se han presentado brotes de enfermedades virales antes desconocidas en habichuela y en tomate en varios municipios del Valle del Cauca. Las habichuelas presentan un arrugamiento foliar severo y amarillamiento moderado, mientras que el tomate muestra síntomas moderados de mosaico y deformación foliar. También se observó una nueva enfermedad viral en tomate en el municipio de Fusagasugá, Cundinamarca. Las plantas afectadas muestran un mosaico amarillo y deformación foliar. Pruebas serológicas y de amplificación de ácidos nucleicos revelaron la presencia de geminivirus transmitidos por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (begomovirus). Secuencias parciales de clones seleccionados de los fragmentos amplificados por PCR, mostraron la presencia de dos especies nuevas de begomovirus en habichuela (Virus del arrugamiento foliar del frijol), y en tomate (Virus del mosaico suave del tomate) en el Valle del Cauca. Las secuencias obtenidas de la muestra de tomate de Fusagasugá, demuestra que el begomovirus detectado es el *Virus del mosaico amarillo del tomate*, originalmente descrito en Venezuela. En algunas de las muestras de tomate, también se encontraron potyvirus y un cucumovirus. Se discute la naturaleza de estos brotes de begomovirus y se hacen recomendaciones para su control a corto y largo plazo.

Palabras claves: Geminivirus, leguminosas, habichuela, tomate, hortalizas

SUMMARY

Previously unknown viral diseases have been observed in past months in different regions of the Cauca Valley, Colombia, affecting snap bean and tomato plantings. The affected snap bean plants show severe leaf malformation (crumpling) and mild variegation. The diseased tomato plants show moderate degrees of mosaic and leaf malformation. Some tomato samples were obtained in Fusagasuga, Cundinamarca, central Colombia. These samples showed foliar yellowing and moderate leaf malformation. Serological tests and PCR amplification of viral nucleic acids using begomovirus-specific primers, revealed the presence of two new begomovirus species in snap bean (Bean leaf crumple virus) and tomato (Tomato mild mosaic virus). The tomato samples from central Colombia contained a known begomovirus species (*Tomato yellow mosaic virus*) originally described from Venezuela; and some samples also contained aphid-borne potyviruses. The unexpected outbreak of these whitefly-borne begomoviruses is discussed here with a view to adopting effective virus control measures.

Keywords: Geminivirus, legumes, greenbeans, tomato, vegetables

INTRODUCCIÓN

Es posible que los geminivirus transmitidos por la mosca blanca *Bemisia tabaci* Genn. (begomovirus) hayan existido en Colombia por más de un siglo, pero es a partir de la década de los 1970s cuando aparece un informe (Galvez et al, 1975) sobre enfermedades causadas por estos virus en una especie cultivada (frijol común). Este informe coincide con epidemias causadas por diversos begomovirus en cultivos como algodón, tomate y frijol en Brasil, Venezuela, México, El Salvador, Cuba y Puerto Rico (Morales y Anderson, 2001) para citar solo algunos de los países más afectados por estas nuevas plagas.

En las últimas décadas, los begomovirus se han convertido en el principal problema de producción de cultivos como el frijol, tomate, pimentón, chile, tabaco y varias cucurbitáceas, en agro-ecosistemas localizados entre el nivel del mar y los 1.000 metros de altura sobre el nivel del mar (msnm), especialmente donde el clima es cálido y con períodos secos definidos, lo cual favorece la reproducción de *B. tabaci*.

En Colombia, a pesar de que se han regis-

trado en años recientes brotes en cultivos como melón y badea, en el norte del país (Atlántico y Córdoba, respectivamente); tabaco en Huila; y frijol y soya en el Valle del Cauca (Morales et al, 2000), los begomovirus no se han convertido en problemas endémicos. Esta situación podría explicarse por la localización geográfica ecuatorial y andina del país, las cuales condicionan una adecuada distribución de lluvias durante el año, y pisos térmicos con temperaturas promedio inferiores a las requeridas por la mosca blanca *B. tabaci*. Sin embargo, existen varias regiones, como la Costa Atlántica, donde existen cultivos susceptibles (e.g., melón y tomate), temperaturas cálidas, y períodos prolongados de sequía, donde *B. tabaci* existe como plaga pero no como vector de begomovirus.

En esta investigación informamos sobre nuevos brotes de begomovirus en zonas agrícolas andinas, y discutimos los factores ambientales que podrían estar condicionando el resurgimiento de estos virus en mayor escala.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras procesadas en esta investigación

consistieron en plantas de diversas variedades e híbridos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) afectadas por un mosaico y deformación foliar moderados (Figura 1a) procedentes de Buga, Guacarí, Robledo, Roldanillo, Rozo, Toro, Tuluá y Vijes. Algunas plantas con síntomas avanzados de la enfermedad, presentaban amarillamiento foliar. En el caso de la habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.), las muestras recolectadas en diferentes lotes de los municipios de Bugalagrande, Pradera, Rozo y Roldanillo, Valle del Cauca, consistían en hojas con un arrugamiento severo (Figura 1b) y variegación moderada (Figura 1d).

Posteriormente llegó una muestra de tomate procedente de Fusagasugá, Cundinamarca, con síntomas de mosaico amarillo y deformación foliar (Figura 1c).

Las muestras de tomate y habichuela del Valle del Cauca fueron recolectadas por el Ing. Agrónomo José Miguel Pacheco, el autor principal, y personal del laboratorio de entomología de frijol del CIAT, coordinado por el Dr. Cesar Cardona. Las muestras de tomate de Fusagasugá fueron enviadas por el Ing. Orlando Arguello. La incidencia de estas enfermedades en el campo era superior al 80%.

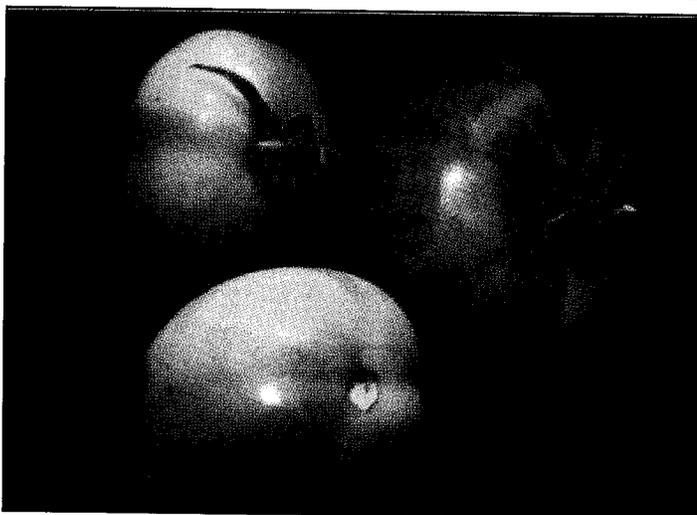
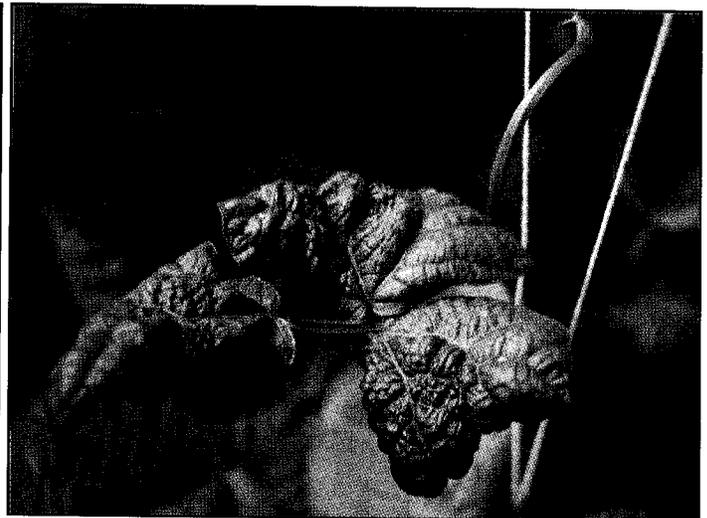


Figura 1. Síntomas de begomovirus en tomate y habichuela, además de otros disturbios en tomate:

- a. Síntomas de mosaico y deformación foliar moderados observados en una planta de tomate procedente de Guacarí, Valle del Cauca.
- b. Arrugamiento foliar severo en una planta de habichuela observada en el municipio de Rozo, Valle del Cauca.
- c. Amarillamiento y deformación foliar observados en una planta de tomate procedente de Fusagasugá, Cundinamarca.
- d. Variegación moderada (derecha) observada en una planta de habichuela observada en el municipio de Rozo, Valle del Cauca. Arrugamiento foliar severo (Izquierda).
- e. Maduración irregular del tomate ('catco iris') causada por la alimentación de la mosca blanca *Bemisia tabaci*, biotipo B.

Serología

Las muestras foliares se procesaron mediante maceración en una solución salina de tampón fosfato (PBS) según el método de ELISA por captura de anticuerpo. Para este ensayo, se seleccionó el anticuerpo monoclonal 3F7 de amplio espectro, el cual detecta todos los begomovirus originarios del Nuevo Mundo (Cancino et al, 1995). También se usaron anticuerpos monoclonales contra potyvirus (AGDIA, Inc.USA) y cucumovirus (producido

en el CIAT) utilizando la técnica de ELISA-indirecta (Voller et al, 1979). En el caso de una muestra de tomate de Fusagasugá, se realizó una prueba serológica a los frutos. El lector de ELISA se calibró a una densidad óptica (DO) de 405 nm.

Amplificación, clonación y secuenciación parcial del ADN viral

Para todas las muestras se hizo extracción del ADN total según el método de Gilbertson et al

(1991). Para la amplificación por PCR de secuencias seleccionadas del genoma de los begomovirus, se utilizó el par de primers PARIC 715 y PALIV 1978 (Rojas y Gilbertson, 1993), los cuales amplifican un fragmento de aproximadamente 1500 pb. La mezcla de reacción para la amplificación se hizo a un volumen final de 25 µL con las siguientes concentraciones finales de los reactivos:

Tampón 1X, MgCl₂ 1,5 mM, dNTPs (total) 0,2 mM, cebadores 0,2 μM, 0,2 μL de taq polimerasa y 5μL de ADN concentrado. Para todas las pruebas de amplificación se incluyó un control positivo de begomovirus y un control negativo donde el ADN era reemplazado por agua estéril.

El programa de amplificación consiste de un ciclo inicial de denaturación a 94 °C por 1 min, 29 ciclos de "annealing" a 52 °C por 1:30 min, extensión a 72 °C por 1 min, denaturación a 94 °C por 30 s, "annealing" a 52 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 1min.; y finalmente una extensión de 5 min a 72 °C.

Los fragmentos amplificados del ADN viral se clonaron utilizando el Kit de "T.A. Cloning de Invitrogen". Se utilizó para cada reacción 1μL de una solución tampón, el Vector 2μL, T4 DNA ligasa y se variaron las cantidades de ADN y agua estéril según la concentración del fragmento amplificado. Previo montaje de la ligación, el producto de amplificación se purificó con el Kit Wizard PCR preps (Promega). La ligación se hizo a 14 °C durante toda la noche y se almacenó a -20 °C hasta el momento de la transformación. La transformación se hizo por choque térmico con células competentes DH5α, elaboradas en el laboratorio. En este proceso, las células se incubaron inicialmente en hielo por 30 min y luego 45 s en un baño María a 42 °C. Pasado este proceso, las células transformadas son recuperadas adicionándoles medio SOC y agitando a 37 °C por una hora.

Posteriormente las células son plateadas en cajas con medio selectivo de LB agar más ampicilina, X-gal e IPTG. Las cajas selladas se incubaron durante toda la noche a 37 °C.

Las colonias blancas resultantes fueron evaluadas por PCR para determinar si estas contenían el inserto del tamaño esperado. La amplificación se hizo según las siguientes condiciones para un volumen final de 50 μL: tampón 1X, MgCl₂ 1,5mM, dNTPs (total) 0,05 μM, primers M13 y T7 0,1μM, taq polimerasa 0,2μM y agua bidestilada estéril. El programa de amplificación consta de los siguientes ciclos: denaturación inicial a 94 °C por 3 min; denaturación a 94 °C 30 s, "annealing" a 55 °C 30 s, extensión a 72 °C 2 min, 29 veces; extensión final a 72 °C por 5 min. Las colonias que tenían el inserto del tamaño esperado, se pusieron a crecer a 37 °C toda la noche en medio LB líquido con ampicilina para posteriormente poder purificar el ADN plasmídico con la ayuda del Kit Wizard plus Minipreps (Promega). Los plásmidos obtenidos fueron secuenciados automáticamente primero con uno de los dos primers M13 o T7 para comprobar si los clones obtenidos eran reales. La autenticidad del clon se verifica, una vez editada la secuencia con el programa SEQUENCHER 4.0, comparado, por medio del algoritmo de BLAST, la secuencia obtenida con las secuencias ya introducidas en el banco de genes. Los clones que resultaron reales se secuenciaron con el pri-

mer complementario correspondiente.

RESULTADOS

Las muestras de tomate procedentes de los municipios de Buga, Guacarí, Roldanillo, Rozo y Vijes en el Valle del Cauca, reaccionaron positivamente (DO405nm 0,11-0,56) en pruebas de ELISA con el monoclonal de amplio espectro para detectar begomovirus. Los valores para el control negativo (tomate libre de virus) variaron entre DO405nm de 0,004 a 0,01.

Las muestras de tomate procedentes de Fusagasugá, Cundinamarca, también reaccionaron positivamente al mismo antisuero (DO405nm 0,12-0,56). Algunas de las muestras de tomate de Roldanillo y Rozo, reaccionaron positivamente (DO405nm 0,16-2,68) con el monoclonal para potyvirus. El control negativo tuvo una lectura DO405nm de 0,02. Las muestras de tomate de Fusagasugá reaccionaron fuertemente al monoclonal de potyvirus (DO405nm >2,0). El control negativo mostró una lectura DO405nm de 0,01. En la muestra de esta localidad donde se examinaron frutos de tomate, las lecturas DO405 nm para potyvirus fueron positivas (> 3,0), pero negativas para begomovirus a pesar de que los frutos pertenecían a una planta seropositiva por los dos tipos de virus. Solo una muestra de tomate procedente de Vijes (Valle), resultó positiva (DO405nm 0,3) para cucumovirus (el control negativo presentó una DO405nm de 0,02).

En el caso de habichuela, las muestras de Pradera, Roldanillo y Rozo (Valle) reaccionaron positivamente (DO405nm 0,28-0,74) con el antisuero monoclonal para begomovirus. Ninguna de las muestras de habichuela reaccionó en estos ensayos contra los antisueros para potyvirus o cucumovirus.

Las pruebas de PCR para begomovirus resultaron en la amplificación de un fragmento esperado de aproximadamente 1500 pb (Figura 2), tanto para las muestras seropositivas de tomate como de habichuela. La secuenciación de un clon de 550 bases obtenido del fragmento amplificado de una muestra de tomate enfermo procedente de Guacarí, Valle, demostró una identidad a nivel de nucleótidos del 85% con el gen de la proteína putativa de la replicasa (AL1) del *Virus del mosaico enano del frijol* (BDMV). El porcentaje de identidad a nivel de aminoácidos subió a 87% para la misma región del virus de tomate y del BDMV. En el caso de la muestra de tomate procedente de Fusagasugá, se secuenció un clon de 500 bases, el cual mostró una identidad en la secuencia de nucleótidos del 91% con parte del gen de la cápside del *Virus del mosaico amarillo del tomate* (ToYMV). La identidad a nivel de aminoácidos aumentó a 95% para este clon en relación al ToYMV.

La secuenciación de un clon de 627 bases obtenido del fragmento amplificado para el begomovirus detectado en una muestra de

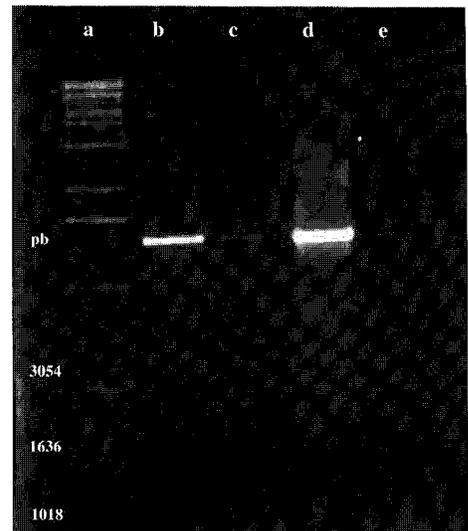


Figura 2. Gel de agarosa 1,2 % mostrando amplificación para Gemínivirus con primers específicos PARIC715 y PALIV1978. **a.** Marcador de peso 1Kb1Kb ADN Ladder (GIBCO, BRL). **b.** Tomate empire. **c.** Habichuela **d.** Control positivo (*Alysicarpus rugosus*) y **e.** Control de reacción. Los fragmentos amplificados por PCR tienen un tamaño aproximado de 1500 pb en tomate y habichuela

habichuela procedente de Rozo, Valle, mostró una identidad a nivel de nucleótidos del 85% con la cápside del *Virus del mosaico dorado amarillo del frijol* (BGYMV). Este porcentaje de identidad descendió al 71% cuando la comparación con el BGYMV se hizo a nivel de aminoácidos.

DISCUSIÓN

Esta investigación demuestra que los begomovirus pueden cobrar una mayor importancia socioeconómica en Colombia. Los brotes descritos aquí ocurren a menos de tres años de aparecer un informe preliminar sobre la diseminación de estos patógenos en diferentes departamentos del país (Morales et al, 2000). La alta incidencia de estos virus en las plantaciones de tomate y habichuela visitadas en el Valle del Cauca, pone de manifiesto el gran potencial epidemiológico que estos virus han demostrado poseer en otras regiones tropicales y subtropicales del mundo. La ocurrencia de epidemias de begomovirus en el Valle del Cauca está estrechamente relacionada con la aparición del biotipo B de *B. tabaci* en esta región a finales de la década de los 1990s (Quintero et al, 1998). Este biotipo es más agresivo que el biotipo original, en términos del número de especies vegetales atacadas y su mayor capacidad reproductiva y de daño directo (Perring, 1995).

Adicionalmente, se viene presentando en los últimos años en el Valle del Cauca y otras regiones agrícolas del país, incluyendo Fusagasugá, una tendencia al incremento de los períodos de sequía, acompañados por mayores temperaturas diurnas. Estos factores climáticos son importantes debido a que favore-

cen la reproducción de la mosca blanca *B. tabaci*.

En condiciones climáticas normales, en el Valle del Cauca y Fusagasugá (>1000 msnm), predomina la especie de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Quintero et al, 2001), la cual no transmite begomovirus. Evidencia directa de la presencia del biotipo B de *B. tabaci* en el Valle del Cauca, es el daño fisiológico conocido vulgarmente como 'arco iris' (maduración irregular) del tomate, el cual va en incremento desde hace un año en este valle (Figura 1e). Este daño al fruto del tomate es causado por la alimentación del biotipo B de *B. tabaci* en tomate (Maynard y Cantliffe, 1989) y no por efecto de virus transmitidos por mosca blanca.

Los ataques del biotipo B en el Valle del Cauca, también se han manifestado en el cultivo de la habichuela en años recientes. Estos nuevos problemas han obligado a los agricultores a usar más pesticidas para proteger los cultivos susceptibles. Desafortunadamente, el uso intensivo de insecticidas es otro de los factores que más agrava el problema de mosca blanca, ya que elimina el control biológico natural y crea rápidamente resistencia a los agroquímicos en la mosca blanca (Prahaker et al, 1985).

El frijol común, ya sea para consumo como grano seco o habichuela, es muy susceptible a virus transmitidos por mosca blanca (Morales y Anderson, 2001). En Colombia y específicamente en el Valle del Cauca, se conocía ya la presencia de los begomovirus del mosaico enano (BDMV) y del mosaico dorado amarillo (BGYMV) del frijol (Morales et al, 1990; Morales et al, 2000). Sin embargo, se encontró aquí un begomovirus relacionado al BDMV infectando tomate, lo cual no es del todo sorprendente, ya que el BDMV proviene de malezas (malváceas) hospederas de varios begomovirus pertenecientes al grupo del *Virus del mosaico del abutilón* (AbMV), capaces de infectar diversas especies vegetales. De hecho, el BDMV es estrechamente relacionado a un begomovirus que ataca el tomate en la Florida, Estados Unidos: el *Virus del moteado del tomate* (Gilbertson et al, 1993). Otros begomovirus del tomate relacionados al BDMV, son el Virus del tomate de la Habana, descrito en Cuba (Martínez et al, 1998) y el Virus del achinamiento del tomate (TLCrV) de México (Brown et al, 2000). Sin embargo, la secuencia parcial obtenida en esta investigación sugiere que el begomovirus encontrado en el Valle del Cauca es una nueva especie, a la que tentativamente damos el nombre de Virus del mosaico suave del tomate (Tomato mild mosaic virus). Este es el primer begomovirus descrito en tomate en Colombia.

Por el contrario, el begomovirus encontrado en Fusagasugá, Cundinamarca, es una especie conocida, originalmente descrita en Venezuela (Debrot et al, 1963). Este virus ha sido ampliamente diseminado en la región del Caribe, posiblemente, mediante el tráfico de

material vegetativo infectado. La presencia de este virus en Fusagasugá sugiere también que ha ocurrido tráfico de plántulas de tomate infectadas entre Venezuela y Colombia. Lo que es más sorprendente, es que este virus se haya diseminado en el municipio de Fusagasugá, dado que las condiciones climáticas allí, son más propicias para *Trialeurodes vaporariorum* que para *B. tabaci*. Según informes del IDEAM (www.ideam.gov.co), el municipio de Fusagasugá ha sufrido condiciones de sequía desde finales del año pasado, lo que explicaría la mayor presencia de *B. tabaci* en esa región del país. Los potyvirus encontrados en las muestras de tomate procedentes de Fusagasugá, sugieren que las condiciones secas han favorecido también el desarrollo de poblaciones de áfidos vectores de estos virus.

El begomovirus aislado de habichuela en el Valle del Cauca está relacionado estrechamente con el *Virus del mosaico dorado amarillo del frijol* (BGYMV), pero parece ser una nueva especie. Estos dos virus también se diferencian por los síntomas que causan en frijol. Como su nombre lo indica, el BGYMV induce generalmente un amarillamiento notable en las hojas de las plantas de frijol, mientras que el nuevo begomovirus descrito aquí induce un arrugamiento foliar severo, con poco amarillamiento. Mientras se caracteriza este virus más a fondo, lo llamaremos tentativamente el Virus del arrugamiento foliar del frijol (Bean leaf crumple virus).

La emergencia de begomovirus capaces de infectar tomate en Colombia es de gran importancia económica, dado el gran potencial patogénico de estos virus y la falta de variedades o híbridos resistentes en la América Latina. La única esperanza para su manejo a mediano plazo, es que las condiciones climáticas se normalicen y las poblaciones de *B. tabaci* en el Valle y Cundinamarca vuelvan a los niveles bajos que tenían. De persistir esta plaga, se deben proteger los semilleros de tomate con malla contra la mosca blanca, así como el cultivo hasta la etapa de formación de frutos mediante el uso de insecticidas sistémicos aprobados para este cultivo. El uso de insecticidas de contacto cuando se observa la mosca blanca en el tomate, no contribuye al control de virus transmitidos por mosca blanca.

A pesar de que existen fuentes de resistencia a begomovirus en frijol común, estas no han sido suficientemente usadas para mejorar variedades de habichuela como la que los productores del Valle están cultivando actualmente. Se requiere entonces iniciar un programa de mejoramiento genético rápidamente. A corto plazo, el uso de insecticidas sistémicos al momento de la siembra, y evitar sembrar en meses secos, ayudaría a reducir la incidencia y daño causado por estos virus en habichuela.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero del

Departamento para el Desarrollo Internacional del Reino Unido (DFID) en esta investigación que hace parte del Proyecto Tropical de Mosca Blanca.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brown, J.K., Ostrow, K.M., Idris, A.M., y Stenger, D.C. 2000. Chino del tomate virus: relationships to other begomoviruses and identification of A-component variants that affect symptom expression. *Phytopathology* 90: 546-552.
- Cancino, M., Abouzid, A.M., Morales, F. J., Purcifull, D.E., Polston, J.E., y E. Hiebert. 1995. Generation and characterization of three monoclonal antibodies useful in detecting and distinguishing bean golden mosaic virus isolates. *Phytopathology* 85: 484-490.
- Debrot, E., Herold, F., y Dao, F. 1963. Nota preliminar sobre un "Mosaico amarillento del tomate" en Venezuela. *Agronomía Tropical* 13: 33-41.
- Gálvez, G.E., Castaño, M., y Belalcazar, S. 1975. Presencia de los virus del mosaico dorado y el moteado clorótico del frijol en Colombia. *Ascolfi Informa* 1: 3-4.
- Gilbertson, R. L., Rojas, M. R., Russel, L. D., y Maxwell, D. P. 1991. The use of the asymmetric polymerase chain reaction and DNA sequencing to determine genetic variability among isolates of bean golden mosaic geminivirus in the Dominican Republic. *Journal of General Virology* 72:2843-2848.
- Gilbertson, R. L., Hidayat, S. H., Paplomatas, E.J., Rojas, M.R., Hou, Y.-M., y Maxwell, D. P. 1993. Pseudorecombination between infectious cloned DNA components of tomato mottle and bean dwarf mosaic geminiviruses. *Journal of General Virology* 74: 23-31.
- Martínez, Y., Blas, C., Quiñonez, M., Castellanos, C., Peralta, E. L., y Romero, J. 1998. Havana tomato virus, a new bipartite geminivirus infecting tomatoes in Cuba. *Archives of Virology* 143: 1757-1772.
- Maynard, D. N., y Cantliffe, D. J. 1989. Squash silverleaf and tomato irregular ripening: new vegetable disorders in Florida. *Vegetable Crops Fact Sheet*, IFAS, University of Florida, Gainesville.
- Morales, F., Niessen, A., Ramírez, B., y Castaño, M. 1990. Isolation and partial characterization of a geminivirus causing bean dwarf mosaic. *Phytopathology* 80: 96-101.
- Morales F. J., Muñoz, C., Castaño, M., y Velasco, A. C. 2000. Geminivirus transmitidos por mosca blanca en Colombia. *Fitopatología Colombiana* 24: 95-98.
- Morales, F. J., y Anderson, P. K. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Archives of Virology* 146: 415-441.
- Perring, T. M. 1995. Biological differences of

- two species of *Bemisia* that contribute to adaptive advantage. Pp, 3-16, En: *Bemisia*: 1995- Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management. D. Gerling and R.T. Mayer (Eds.). Intercept, Andover.
- Prabhaker, N., Coudriet, D. L., y Meyerdirk, D. E. 1985. Insecticide resistance in the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 78: 748-752.
- Quintero, C., Cardona, C., Ramirez, D., y Jimenez, N. 1998. Primer registro del biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 24: 23-28.
- Quintero, C., Rendón, F., García, J., Cardona, C., Lopez-Avila, A., y Hernández, P. 2001. Especies y biotipos de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en cultivos semestrales de Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27: 27-31.
- Rojas, M., y Gilbertson, R. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease* 4: 340-347.
- Voller, A. D., Bidwell, E., y Bartlett, A. 1979. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Dynatech Laboratories, Inc., Alexandria, VA, USA. 125 p.

Reprinted with permission from Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines ASCOLFI. Originally published in *Fitopatología Colombiana* 26(1-2): 75-79, Copyright 2002.