

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE
GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades
Departamento de Bioquímica y Microbiología



**Biodiversidad de *Begomovirus* sp. (*Geminiviridae*) presentes en malezas
de 14 departamentos de Guatemala durante los años 2006 y 2007**

Trabajo de graduación presentado por Mélanly Damaris Velásquez Gómez
para optar el grado de licenciada en Bioquímica y Microbiología

Guatemala
2007

**Biodiversidad de *Begomovirus* sp. (*Geminiviridae*) presentes en malezas
de 14 departamentos de Guatemala durante los años 2006 y 2007**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE
GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades
Departamento de Bioquímica y Microbiología

**Biodiversidad de *Begomovirus* sp. (*Geminiviridae*) presentes en malezas
de 14 departamentos de Guatemala durante los años 2006 y 2007**

Trabajo de investigación presentado por Mélaney Damaris Velásquez Gómez
para optar al grado académico de Licenciada en Bioquímica y Microbiología

Guatemala
2007

Vo. Bo

(f) _____
Licenciado Andrés Ávalos

Asesor

Tribunal Examinador:

(f) _____
Licenciado Andrés Ávalos

(f) _____
Licenciada Margarita de Palmieri

(f) _____
Doctora Pamela Pennington

Fecha de Aprobación: Guatemala, 12 de diciembre de 2007.

PREFACIO

Esta tesis formó parte del proyecto “Biodiversidad (análisis filogeográfico y diversidad genética) de *Begomovirus* en malezas y plantas silvestres en Guatemala”. Fungiendo la Licenciada Margarita Palmieri el cargo de investigadora principal, financiado con fondos de las instituciones de AGROCYT, en cooperación con el laboratorio de protección vegetal del instituto de Investigaciones de la Universidad del Valle de Guatemala, como parte de un estudio complementario al programa nacional para controlar las infecciones por geminivirus.

Para realizar el estudio se muestrearon 14 departamentos del país, obteniendo un total de 949 muestras de maleza, obtenidas de los cultivos y zonas aledañas. A partir de dichas muestras, se estudio la diversidad del virus según el hospedero alternativo, en función tanto de la localización de éste como de la familia a la que pertenece. La detección se llevó a cabo por PCR con cebadores degenerados como tamizaje e iniciadores específicos para la identificación. En una segunda parte, se realizó un análisis de la diversidad de *Begomovirus* y de 8 de sus especies tanto de forma cualitativa (gráficas) cómo de forma cuantitativa (pruebas estadísticas).

Una de las limitaciones del estudio, consistió en que se obtuvieron muy pocas muestras positivas para cada una de las especies, lo que implica una variabilidad considerable, a partir de los cálculos realizados, puesto que el error es estadísticamente mayor en conjuntos pequeños de muestras. Por otro lado, los datos obtenidos no son del todo representativos para cada departamento en sí, puesto que los muestreos sólo comprendieron uno o algunos de los municipios de cada uno. De esta forma, la información obtenida muestra solamente una tendencia; y es parte del primer inventario de los *Begomovirus* presentes en malezas, que se hace en el país.

Las colectas estuvieron a cargo del personal de laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala, de igual forma la práctica se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio antes descrito.

Agradezco especialmente a la Licenciada Margarita Palmieri por su asesoría y por permitirme ser parte de su grupo de investigadores, así como hacer uso de las instalaciones, material y equipo del laboratorio de Protección Vegetal para llevar a cabo mi trabajo de investigación. .

Al Doctor Aguilar por su orientación durante toda mi carrera universitaria, y a la Doctora Pennington por su colaboración a lo largo del proceso de mi tesis.

A mis compañeros del laboratorio de Protección Vegetal, quienes me dieron su amistad y colaboración. Especialmente a Elena y Andrés por su enorme paciencia, constante ayuda y consejos.

A mis compañeros y amigos, Laura,, Mishel, Lulu, Luis, Fredy, Estuardo, Wendy A., Wendy R., Marco, Sebastián, Thomas, Wilfredo, y en especial a Lucía, por todo su apoyo y amistad. Además de amigos y personas que de alguna forma contribuyeron en la realización de este estudio.

Finalmente, a mi novio, mis padres, hermano y familiares por todos sus sacrificios, constante apoyo y amor.

ÍNDICE

	Página
PREFACIO	v
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	
A. Geminivirus	2
1. Subgrupos	2
B. <i>Begomovirus</i>	3
C. Especies	5
1. <i>Begomovirus</i> identificados en los países centroamericanos y del Caribe	6
D. Epidemiología	10
1. Hospederos	10
2. Etiología e incidencia	12
3. Variabilidad de <i>Begomovirus</i>	14
E. Importancia de <i>Begomovirus</i>	16
1. Enfermedades causadas por <i>Begomovirus</i>	16
2. Cultivo del Tomate	17
F. Medidas de nichos y preferencias de recursos	19
1. Amplitud de nicho	19
a. La medida de Levins	19
b. Medida de Shannon – Wiener	20
2. Número de recursos frecuentemente usados	21
3. Traslape de nichos	21
a. Medida de McArthur y Levins	21
b. Porcentaje de traslape	22
c. Índice simplificado de Morisita	22
III. JUSTIFICACIÓN	24
IV. OBJETIVOS	
A. Generales	26
B. Específicos	26
V. MATERIALES Y MÉTODOS	
A. Esquema general de la metodología	27
B. Materiales	28
C. Métodos	
1. Muestreo	28
2. Extracción de ADN de maleza	28
3. Cuantificación de ADN	29
4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de <i>Begomovirus</i> general	29
5. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para identificar las especies de <i>Begomovirus</i>	30
6. Electroforesis en gel de agarosa	30
D. Análisis estadístico	31

CONTINUACIÓN DEL ÍNDICE

VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
	A. Extracción del ADN de las muestras trabajadas y de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección del género <i>Begomovirus</i>	32
	B. Porcentajes de incidencia de <i>Begomovirus</i> spp.	33
	C. Distribución de <i>Begomovirus</i> spp. según su hospedero alterno y localización geográfica	35
	D. Distribución de <i>Begomovirus</i> spp. por localización geográfica	36
	E. Distribución de <i>Begomovirus</i> spp. por familia	40
	F. Análisis estadístico de la diversidad de las especies de <i>Begomovirus</i>	43
	G. Mapa	46
VII.	CONCLUSIONES	47
VIII.	RECOMENDACIONES	49
IX.	LITERATURA CITADA	51
X.	APÉNDICES	
	A. Apéndice A: Información sobre las muestras recolectadas y localización de giras de campo	55
	B. Apéndice B: Cuantificación de ADN	77
	C. Apéndice C: Protocolos empleados para la realización de PCR y secuencia de cebadores	77
	D. Apéndice D: Procedimiento para electroforesis en gel de agarosa	79
	E. Apéndice E: Otros cuadros	89

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Organización genómica de geminivirus: Genes virales, funciones y nomenclatura	4
2	Criterios de marcación de especies del género <i>Begomovirus</i>	6
3	Virus identificados en Centroamérica y el Caribe hasta 1994	7
4	Características de algunos geminivirus que afectan el hemisferio occidental	9
5	Incidencia de <i>Begomovirus</i> encontrados en Centroamérica	16
6	Costo adicional que causan las enfermedades por geminivirus en el cultivo de tomate en Guatemala	18
7	Protocolo para la extracción de ADN a partir de malezas	29
8	Denominación taxonómica de los virus específicos trabajados y sus respectivos nombres abreviados empleadas para su identificación a lo largo de este trabajo	30
9	Porcentajes de incidencia de <i>Begomovirus</i> general y específicos en los 14 departamentos de Guatemala muestreados	33
10	Medida de Levins para la amplitud de nicho ecológico (B), así como su respectiva estandarización (Ba) en las 7 especies de <i>Begomovirus</i> con respecto a cada departamento en los que se muestrearon malezas	43
11	Índice de diversidad de Shannon – Weiner (H^*), así como su respectiva estandarización (J^*) en las 7 especies de <i>Begomovirus</i> , calculadas para logaritmo de base 10 (nits) y de base 2 (bits), con respecto a cada departamento en los que se muestrearon malezas	43
12	Medida de Levins para la amplitud de nicho ecológico (B), así como su respectiva estandarización (Ba) en las 7 especies de <i>Begomovirus</i> con respecto a cada familia de malezas positivas	43
13	Índice de diversidad de Shannon – Weiner (H^*), así como su respectiva estandarización (J^*) en las 7 especies de <i>Begomovirus</i> , calculadas para logaritmo de base 10 (nits) y de base 2 (bits), con respecto a cada familia de malezas positivas	44
14	Comparación del porcentaje de traslape contra los índices de traslape de nichos de McArthur y Levins estandarizado (O_{jk}) y Morisita Simplificado (CH), para las diferentes especies de <i>Begomovirus</i> , expresados como proporción de $(0 - 1)$ y como porcentaje	44
15	Índice de traslape de nichos de Morisita Simplificado (CH), para las diferentes especies de <i>Begomovirus</i> , expresados como porcentaje en una matriz triangular	45
16	Distribución de los 14 departamentos estudiados dentro de 5 regiones del país clasificadas con base a su localización	56
17	Clave utilizada para abreviar la sintomatología de las malezas	56
18	Descripción general de las muestras colectadas	58
19	Soluciones y materiales empleados para la cuantificación de ADN	77
20	Mezcla de reacción para detección de geminivirus por PCR	77
21	Secuencia de iniciados degenerados	77
22	Programa de amplificación para detección de geminivirus por PCR	78
23	Mezcla de PCR para identificación de especies específicas de <i>Begomovirus</i> en malezas	78
24	Iniciadores de PCR específicos para la detección de 8 <i>Begomovirus</i> identificados en Centro América y sus respectivas temperaturas de hibridización	78

CONTINUACIÓN DE LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
25	Programa de amplificación para identificación de especies específicas de <i>Begomovirus</i>	79
26	Soluciones y materiales empleados para la electroforesis en gel de agarosa	79
27	Descripción de la muestras positivas para <i>Begomovirus</i> general en las 949 muestras de maleza analizadas los 14 departamentos	80
28	Distribución de <i>Begomovirus</i> general en los 14 departamentos estudiados y su respectivo porcentaje de incidencia	81
29	Distribución de <i>Begomovirus</i> específicos a partir de la 949 muestras estudiadas y su respectivo porcentaje de incidencia con respecto a las muestras positivas para <i>Begomovirus</i> General	81
30	Distribución de Golden por Departamento	81
31	Distribución de Havana por Departamento	82
32	Distribución de Leaf por Departamento	82
33	Distribución de Huasteco por Departamento	83
34	Distribución de Mottle por Departamento	83
35	Distribución de Mild por Departamento	83
36	Distribución de Yellow por Departamento	83
37	Distribución regional de <i>Begomovirus</i> y sus especies estudiadas en los 14 departamentos de Guatemala	84
38	Distribución de Golden por familia de maleza	84
39	Distribución de Havana por familia de maleza	84
40	Distribución de Leaf por familia de maleza	85
41	Distribución de Huasteco por familia de maleza	85
42	Distribución de Mottle por familia de maleza	85
43	Distribución de Mild por familia de maleza	85
44	Distribución de Yellow por familia de maleza	86
45	Altura y coordenadas de las muestras empleadas para realización del mapa de distribución de <i>Begomovirus</i> , en los 14 departamentos de Guatemala	86
46	Lista de reactivos empleados para los diferentes procedimientos de laboratorio, descritos con antelación, en la sección de metodología	87
47	Lista del equipo empleado para los diferentes procedimientos de laboratorio, descritos con antelación, en la sección de metodología	88
48	Lista del otros materiales utilizados en los diferentes procedimientos de laboratorio, descritos con antelación, en la sección de metodología	88
49	Stock de buffer TAE 50X, para un litro	89
50	Buffer TAE 1X, para un litro	89

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ciclo replicativo de un geminivirus bipartito	5
2	Ciclo infectivo de <i>Begomovirus</i> sp.	10
3	Épocas de cosecha de tomate en Guatemala	17
4	Migración de los productos de PCR para la detección del género <i>Begomovirus</i>	32
5	<i>Begomovirus</i> específicos presentes en malezas	34
6	Distribución de <i>Begomovirus</i> por departamento	35
7	Distribución regional de <i>Begomovirus</i> general en las malezas de 14 departamentos de Guatemala	35
8	Distribución de Golden por departamento	37
9	Distribución de Havana por departamento	37
10	Distribución de Leaf por departamento	37
11	Distribución de Huasteco por departamento	37
12	Distribución de Yellow por departamento	37
13	Distribución de Mild por departamento	37
14	Distribución de Mottle por departamento	37
15	Distribución regional de Golden en las malezas de 14 departamentos de Guatemala	38
16	Distribución regional de Leaf en malezas de 14 departamentos de Guatemala	38
17	Distribución regional de Havana en malezas de 14 departamentos de Guatemala	38
18	Distribución regional de Yellow en malezas de 14 departamentos de Guatemala	38
19	Distribución regional de Mottle en malezas de 14 departamentos de Guatemala	39
20	Distribución regional de Mild en malezas de 14 departamentos de Guatemala	39
21	Distribución regional de Huasteco en malezas de 14 departamentos de Guatemala	39
22	Proporción de <i>Begomovirus</i> específicos respecto al total en la región Central-Norte de Guatemala	39
23	Proporción de <i>Begomovirus</i> específicos respecto al total en la región Este de Guatemala	39
24	Proporción de <i>Begomovirus</i> específicos respecto al total en la región Costa Sur de Guatemala	40
25	Proporción de <i>Begomovirus</i> específicos respecto al total en la región Sur de Guatemala	40
26	Proporción de <i>Begomovirus</i> específicos respecto al total en la región Occidente de Guatemala	40
27	<i>Begomovirus</i> específicos presentes en malezas	40
28	Distribución de Golden por familia	41
29	Distribución de Havana por familia	41
30	Distribución de Huasteco por familia	41
31	Distribución de Leaf por familia	41

CONTINUACIÓN DE LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
32	Distribución de Mild por familia	42
33	Distribución de Mottle por familia	42
34	Distribución de Yellow por familia	42
35	Representación de la distribución geográfica de <i>Begomovirus</i> spp. presentes en las malezas de los 14 departamentos de Guatemala	46
36	Representación de los departamentos del país en los que se colectaron las muestras de malezas	55

RESUMEN

Los *Begomovirus* son virus emergentes de nuestra época, con gran relevancia debido a su enorme potencial de diseminación a nivel mundial, a través de su vector, mosca blanca (*Bemisia tabaci*). Se encuentran asociados a varios tipos de cultivos, principalmente al tomate. En Guatemala, se estima una producción de tomate de aproximadamente 10,000 manzanas de siembra (Palmieri *et al.* 2005), lo que equivale 1,500 millones de quetzales (asumiendo una producción promedio de 1,200 cajas/manzana (Palmieri *et al.* 2005) y un precio de Q.2.50 por libra). Las pérdidas provocadas por los *Begomovirus*, pueden hacer que la producción de tomate disminuya hasta una producción de 200 cajas por manzana (FASAGUA 2007) lo que equivaldría a casi un 100% de pérdidas.

El objetivo de este estudio es brindar información sobre la diversidad de *Begomovirus* presentes en las malezas (hospederos alternos) cercanas a los cultivos, principalmente de se solanáceas y cucurbitáceas. Para ello se trabajó un total de 949 muestras de maleza, recolectadas en 14 departamentos del país (Huehuetenango, Quiché, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Quetzaltenango, Chimaltenango, Guatemala, El Progreso, Zacapa, Jalapa, Chiquimula, Escuintla, Santa Rosa y Jutiapa).

A cada muestra se le extrajo el ADN, y se les realizó la detección de *Begomovirus* general mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con cebadores degenerados. Posteriormente, se tomaron las muestras positivas y se detectaron las 8 especies de virus específicos (*Pepper huasteco yellow vein virus* (PHYV), *Tomato severe leaf curl virus* (ToSLCV), *Tomato golden mottle virus* (ToGMoV), *Tomato mild mottle virus* (ToMiMoV), *Tomato mosaic Havana virus* (ToMHV), *Tomato yellow mottle virus* (ToYMoV), *Tomato leaf curl Sinaloa virus* (ToLCSinV) y *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV)).

El porcentaje de incidencia del *Begomovirus* general en malezas fue de 5.06%. Las cuatro especies de virus con mayor incidencia en el área departamental muestreada está constituida por PepGMV, ToMHV, PHYV y ToSLCV, siendo ToSLCV en éste estudio el de mayor prevalencia. La incidencia de virus específicos fue de 1.58% para ToSLCV, 1.05% para ToMHV, 0.95% para PepGMV, 0.42% en PHYV, 0.32% para ToYMoV, 0.21% para ToMiMoV, 0.11% para ToGMoV y 0.0% para ToLCSinV.

Las regiones este, costa sur, y sur muestran una distribución equitativa de *Begomovirus*, mientras la región occidental posee un menor porcentaje de incidencia del virus. La región central norte posee el

mayor porcentaje de virus. Se observó que las diferentes especies de virus están divididas en todas las regiones, sin que exista un patrón específico que determine la proporción, pero teniendo siempre mayor predominancia las especies ToSLCV, PepGMV y ToMHV. Mientras que PepGMV, ToMHV y PHYV muestran una distribución similar en las familias de maleza (en cuanto a número), ToSLCV presenta el más alto rango de hospedero, lo que implica una mayor diversidad de la especie de virus, con lo que puede explicarse su mayor distribución geográfica. Es probable que los otros virus específicos posean tipos de infecciones más especializadas, debido a que comprenden hospederos más específicos, tal es el caso de ToMiMoV, ToGMoV y ToYMoV.

El análisis estadístico de la diversidad de las especies de Begomovirus, demostró ToSLCV es la especie con mayor diversidad tanto en la localización geográfica del hospedero ($Ba = 0.565$ y $J' = 0.716$), como en las familias del mismo ($Ba = 0.522$ y $J' = 0.812$). De forma antagónica ToGMoV presenta la menor diversidad con un Ba y $J' = 0.000$ para la distribución departamental, y un Ba y $J' = 0.000$ para la distribución de hospederos. La amplitud de nicho para ToSLCV (Ba), comprueba una vez más que posee una mayor capacidad infectiva en las malezas en comparación con las otras especies. Las otras especies presentaron valores entre este rango. La obtención tanto del porcentaje de traslape como de los índices de traslape de nichos, evidenció la presencia de infecciones múltiples en una misma maleza, siendo ToSLCV el que mayor traslape presenta en relación con las demás especies, y ToGMoV el de menor traslape.

La divulgación de los resultados obtenidos con este estudio, será útil para la realización de estudios posteriores que abarquen la colecta de muestras de malezas pertenecientes a las familias identificadas como hospederos alternos hasta el momento, con el fin de identificar las especies o géneros que contribuyen a la prevalencia y diseminación de los *Begomovirus* en el país. Este estudio es de gran importancia en el área agrícola, ya que las malezas están involucradas de forma directa con la transmisión del virus hacia el vector, y por ende a los cultivos. Así, el conocimiento de los reservorios será de gran utilidad para el control del virus en país.

XI. INTRODUCCIÓN

Los *Begomovirus sp.*, pertenecientes a la familia Gemviridae, conforman un grupo único de virus que infectan plantas. Esto se debe principalmente, a su gran capacidad de adaptación, misma que le ha permitido sobrevivir a lo largo de la historia y alcanzar un alto nivel de coevolución junto a su principal vector, la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), dando lugar a la diversificación de sus hospederos y a un aumento en su capacidad infectiva.

En América Central, la incidencia de los *Begomovirus* es del 100% durante las estaciones secas y las pérdidas pueden alcanzar hasta el 60% de los cultivos (Nakhla *et al.* 2005). Estas epidemias están asociadas con los cambios en las prácticas de siembra, así como la constante plantación de cultivos. Se desconoce el origen de los nuevos *Begomovirus* identificados. Una posibilidad es que sean el resultado de mutaciones. Las especies también pueden ser producto de la introducción del virus al país, como resultado de la transmisión por el vector. Sin embargo, como su aparición es bastante rápida y no sustituye la presencia de los ya conocidos, se cree que es más probable que estos *Begomovirus* puedan provenir de malezas o plantas silvestres aleatorias a los cultivos. El objetivo de este estudio es la generación de una base de datos de los diferentes *Begomovirus* asociados a malezas, tanto en áreas de alta como de baja densidad del virus y de hospederos vegetales, encontrados en zonas aleatorias a siembras de plantas de interés agrícola.

Este estudio es una contribución a la investigación integral de agricultores y científicos de América del Norte, Mesoamérica y el Caribe para encontrar respuestas o soluciones al problema que generan los *Begomovirus* en cultivos importantes para Guatemala. Así como para proteger el ambiente y la salud de las personas involucradas en los procesos agrícolas.

El análisis de las 949 muestras de malezas colectadas en 14 departamentos y un total de 40 fincas diferentes, dio como resultado la generación del primer inventario de *Begomovirus* en malezas aleatorias a las plantaciones de solanáceas (tomate y chile) y cucurbitáceas (pepino y melón) principalmente. A la vez, se realizó una comparación con los *Begomovirus* encontrados anteriormente y, con ello, se proporcionó información necesaria para el buen manejo de los cultivos. Así mismo, el estudio permitió mejorar la comprensión de la biodiversidad, tanto del virus como del hospedero. Esto se logró mediante la identificación de patrones que pueden influir en la diversificación y evolución de *Begomovirus*, así como por la comparación de las características patogénicas en infecciones únicas en relación con las infecciones mixtas

XII. ANTECEDENTES

A. Geminivirus.

Los geminivirus son una familia de virus patógenos de plantas que ocasionan considerables pérdidas y daños en numerosos cultivos alrededor del mundo, distribuyéndose principalmente en zonas tropicales y subtropicales. Son transmitidos por insectos vectores a una gran variedad de plantas mono y dicotiledóneas. La distribución geográfica del vector es la responsable de la dispersión del geminivirus que transmite (Vega y Rivera 2001), causando pérdidas económicas importantes en hortalizas, cultivos básicos e industriales (De la Torre *et. al.* 2002).

Su genoma está constituido por 1 ó 2 moléculas de ADN simple hebra (ADNsh). Su nombre deriva de la morfología de su partícula, ya que semejan dos polihedros unidos regulares e idénticos (gemi= gemelos) (De la Torre *et. al.* 2002). Son circulares, ambisentido y forman un círculo cerrado. El largo total es de 2,500-3,000 o 4,800-5,600 nucleótidos. Los genomas multipartitos están divididos en diferentes partículas, cada una es encapsidada independientemente de la otra. Los viriones son icosaédricos, no envueltos, de 38 nm de largo y 22 nm de diámetro, contienen 22 capsómeros por nucleocápside (ICTVdB Management 2006).

Los genomas virales codifican proteínas estructurales y no estructurales, sin embargo no se ha reportado la síntesis de lípidos (Antoniw y Adams 2007). Los lípidos proceden de la membrana celular del hospedero cuando el virión se envuelve en ella al salir por un punto específico. Por sí mismo el ácido nucleico no es infeccioso, en especies bipartitas se necesitan ambos componentes para producir infecciones sistémicas (ICTVdB Management 2006). Todos los miembros codifican una proteína de cobertura de 28-34 kDa y otra de replicación (Rep) de 41 kDa que inicia la replicación en forma de *rolling circle*. Contienen una región intergénica que incluye una secuencia conservada de nucleótidos (TAATATTAC), en donde se inicia la síntesis del ADNsh (Antoniw y Adams 2007). Además del interés que los geminivirus despertaron como agentes causales de enfermedades con importancia económica, el tener un genoma de ADN atrajo la atención para explorar la posibilidad de usarlos como vectores para la introducción de material genético en plantas (Vega y Rivera 2001).

1. Subgrupos. De acuerdo con el insecto vector que los transmite, el tipo de planta hospedera que infectan y su estructura genómica, los geminivirus se pueden clasificar en cuatro géneros (Antoniw y Adams 2007) o tres subgrupos definidos (De la Torre *et. al.* 2002): *Mastrevirus* (subgrupo I),

Curtovirus (subgrupo II), *Begomovirus* (subgrupo III) y *Topocuvirus* (Méndez *et al.* 2003). Las principales características de cada uno son:

- Los *Mastrevirus* son monopartitos, con genoma ligeramente más pequeño que el de los otros géneros, segmentado y codifica 3 ó 4 proteínas (Antoniw y Adams 2007). Son transmitidos por diferentes especies de chicharritas e infectan monocotiledóneas (Rivera y Ruiz 1997).
- Los *Curtovirus* tienen genoma segmentado, monopartito y codifica 7 proteínas (Antoniw y Adams 2007). También son transmitidos por chicharritas, pero infectan dicotiledóneas (Rivera y Ruiz 1997).
- Los *begomovirus* contienen dos genomas segmentados (bipartitos). Son transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) e infectan plantas dicotiledóneas. A la fecha, en Centro América y México, se han registrado virus pertenecientes a este género principalmente (Rivera y Ruiz 1997).
- Los *Topocuvirus* tienen un genoma segmentado que codifica 6 proteínas (Antoniw y Adams 2007). Es transmitido por diferentes vectores, entre ellos artrópodos o insectos del orden Hemiptera, familia Aleyrodidae, Membracidae; *Bemisia tabaci* y *Micrutalis malleifera* (ICTVdB Management 2006). Difiere de los otros monopartitos, ya que su genoma codifica 6 proteínas e infecta plantas dicotiledóneas (Antoniw y Adams 2007). Este género fue aprobado en 1999 por la ICTV, debido ello, en la literatura únicamente se mencionan los otros tres géneros (Danforth *et al.* 2003)

B. *Begomovirus*

El género *Begomovirus* (familia: Gemiviridae) es único entre los virus que infectan plantas porque tiene un genoma de ADN pequeño (poco común entre los virus que infectan plantas), circular, de una banda y en sentido positivo, encapsidado en una cápside icosaédrica gemela. Esta familia contiene virus patógenos a plantas tanto cultivadas como silvestres y se han convertido en importantes desde que la agricultura ha tenido que ampliarse para satisfacer las demandas (monocultivos) y desde que se introdujo un nuevo biotipo. Los *Begomovirus*, antes llamados geminivirus, están formados por dos moléculas (cromosomas) en el hemisferio oeste, cada uno empacado en partículas aisladas (Rybicki 1994), mientras que en el hemisferio este, se encuentran tanto ejemplares con dos cromosomas como con uno (Kheyr-Pour *et al.* 1991). Estos son llamados anillo A y anillo B en el caso de dos cromosomas. El cromosoma A contiene cuatro genes llamados AL1, AL2, AL3 y AR1 y dos genes el cromosoma B, llamados BL1 y BR1 (Lazarowitz 1991). La secuencia para la región común sin embargo, es diferente para los diferentes *Begomovirus*, excepto por la secuencia que constituye el tallo del lazo (Ramírez y Maxwell 1994).

En el cuadro 1 se muestra la organización genómica del PHV (*Pepper huasteco virus*) como representante del subgrupo III, además se presentan las funciones de los genes y su nomenclatura (Rivera y Ruiz 1997).

Cuadro 1

Organización genómica de geminivirus: Genes virales, funciones y nomenclatura

Componente	Gen (sinónimo)	Función
A	Rep (AC1, AL1)	Iniciación de la replicación
	TrAP (AC2, AL2)	Activación de la transcripción de genes tardíos
	AC3 (AL3)	Involucrado en replicación
	CP (AV1, AR1)	Proteína de la cápside
B	BC1 (BL1)	Movimiento célula-célula
	BV1 (BR1)	Movimiento núcleo-citoplasma

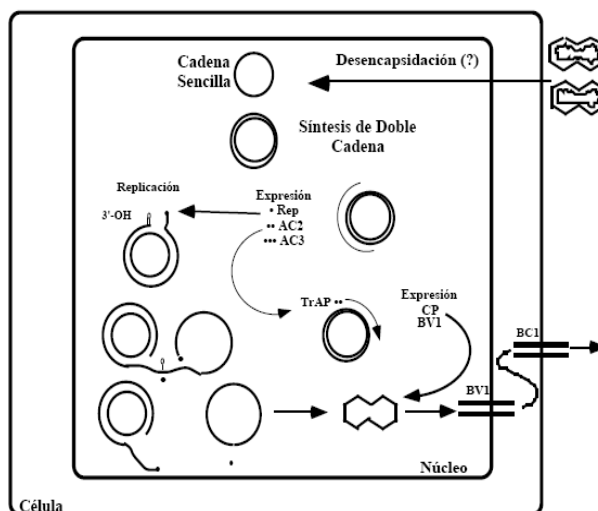
(Rivera y Ruiz 1997)

Algunos científicos reportan que el genoma bipartito es más primitivo, pero otros sugieren que el bipartito se derivó del monopartito cuando ocurrió una duplicación de genes en el que algunas funciones previamente establecidas en un gen del anillo A, se trasladaron a un gen del anillo B (localización nuclear y exportación del ADN viral) y el gen del anillo B, posiblemente involucrado en la movilización del virus de célula a célula. Como no hay estimaciones de la velocidad de mutación en *Begomovirus*, no se han podido comprobar las hipótesis (Bejarano *et al.* 1994 y Idris y Brown 1998).

Los *Begomovirus* poseen características de procariontes y de eucariotas. Ejemplos de esto son la manera de replicación de los *Begomovirus*, el círculo rodante (rolling circle) (*ori*), se parece a la de los bacteriófagos y se ha dilucidado que es una indicación del origen antiguo del virus (Jeske *et al.* 1980). También dentro de la región no codificada, la región intergénica que contiene el *ori*, para cada cromosoma de *Begomovirus*, se encuentra conservada un "stem loop" y una secuencia no codificadora, taatattac, en la cual el ADN circular es cortado para iniciar la replicación. Esta secuencia es conservada en los cuatro géneros de la familia Geminiviridae, también encontrada en *Nanoviruses*, que son virus de plantas pequeños, multisegmentados y conteniendo ADN de una banda, muchos de los cuales son transmitidos por homópteros. Las regiones codificadoras de los *Begomovirus* en cambio, tienen características eucariotas, pero carecen de intrones. También secuencias de *Begomovirus* han sido encontradas integradas a los genomas de las plantas (tabaco, tomate) (Bejarano *et al.* 1994 e Idris y Brown 1998).

La figura No. 1 muestra de forma esquemática, la forma en que se lleva a cabo el ciclo de replicación viral de geminivirus dentro de una célula de planta. Se describen los genes que actúan en cada etapa de la replicación. Además, se observan las diversas fases, desde que el virus entra en la célula, hasta que se lleva a cabo el ensamblaje del mismo, para salir a infectar nuevas células.

Figura No. 1
Ciclo replicativo de un geminivirus bipartito (Tomado de Rivera y Ruiz 1997)



C. Especies.

La diversidad de los geminivirus transmitidos por moscas blancas se ha comenzado a estudiar recientemente, sin embargo, se desconoce la epidemiología de este grupo de virus, lo que representa grandes problemas para el manejo de las enfermedades que causan. Esta diversidad puede ser ilustrada con la información actual sobre los geminivirus que infectan tomates en las diferentes regiones del mundo. El *Tomato yellow curl virus* (TYLCV) ha sido conocido como el causante más importante de pérdidas en la región mediterránea y se creía que era bipartito. Otros reportes han demostrado que el TYLVC proveniente de Israel, Italia y Australia es monopartito, contrario al aislado en Tailandia (TYLVC-Th) que es bipartito. Otro ejemplo es que el virus *Pepper huasteco* (PHV) encontrado en México presenta algunos genes semejantes a los geminivirus del hemisferio occidental como el TYLCV. La explicación hipotética es la existencia de un virus ancestral común, seguida de un proceso de divergencia al adaptarse a los diferentes insectos y plantas hospederas (Ramírez y Maxwell 1994).

Se ha sugerido que los geminivirus bipartitos son capaces de intercambiar información de pequeños fragmentos, que varían desde algunos nucleótidos hasta alrededor de 2,000 (Fauquet y Stanley 2003), por el medio de pseudorecombinación y por recombinación intramolecular (Ramírez y Maxwell 1994). Estos mecanismos logran dar origen a nuevas especies o cepas. Por tal razón, se estableció un criterio para diferenciar entre nuevas especies y cepas, con base en el porcentaje de similitud en la secuencia de su genoma (Fauquet y Stanley 2003).

Se estableció un porcentaje de similitud de las secuencias entre 57% y 89% para considerarse una misma especie, y del 87% al 100% para considerarse cepas (Fauquet y Stanley 2003). El objetivo es diferenciar entre nuevas especies y cepas, especialmente a nivel de diagnóstico y control de enfermedades específicas, de acuerdo a la epidemiología y evolución del virus (Fauquet y Stanley 2003). De esta manera, la diversidad del virus puede tomarse en cuenta para considerar la implementación de programas de control de geminivirus en los diferentes cultivos (Mejía y Dardón 1994).

Por ejemplo, los geminivirus del subgrupo III que afectan el tomate en Costa Rica son diferentes a los detectados en Nicaragua y Guatemala. Recientemente se ha puesto el nombre *Tomato severe leaf crumple virus* (TSLCrV) para virus presentes en Guatemala, Honduras y Nicaragua y *Tomato leaf crumple virus* (TLCrV) para el presente en México (Mejía y Dardón 1994).

En el cuadro de abajo se muestran los criterios de demarcación de especies del género *Begomovirus* para considerar la aparición de una nueva especie:

Cuadro No. 2
Criterios de demarcación de especies del género *Begomovirus* (Tomado de Fauquet y Stanley 2003)

Carácter	Criterio
Genoma	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diferentes números en los componentes del genoma ▪ No hay transcomplementación de los productos de los genes ▪ No hay pseudorecombinaciones entre componentes
Secuencia de genomas	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Secuencias de nucleótidos idénticas en el componente A inferiores al 89%
Proteínas	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diferentes reacciones inmunológicas a anticuerpos monoclonales
Transmisión	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diferentes vectores
Rango de hospederos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diferentes rangos de hospederos

1. Begomovirus identificados en los países centroamericanos y del Caribe. Hasta 1994 había reportes de siete grupos principales de *Begomovirus* en Centroamérica, México y el Caribe, clasificados según la posición 805 del N-terminal del gen *Rep*, que se mencionan a continuación:

- Virus del mosaico dorado (BGMV)-tipo II, incluye aislamientos de Puerto Rico, República Dominicana y Guatemala.
- Virus del mosaico dorado (BGMV)-tipo I, aislamientos de Brasil
- Virus del enanismo del frijol (BDMV) incluye el virus del mosaico del abutilón (AbMV), virus moteado del tomate (ToMoV) y virus del encrespamiento de la hoja del tomate (TLCrV).
- Virus del enrollamiento de la hoja de calabaza (SqLCV), incluye cepas R y E del AqLCV, virus del mosaico dorado calopogonium (CalGMV), virus del pimentón de Texas (TPV), virus del mosaico cálico del frijol (BCMoV) y virus del encrespamiento severo de la hoja del tomate (TSLCrV).

- Virus huasteco del pimentón (PHV)
- Virus del mosaico dorado del tomate (TGMV)
- Virus del mosaico amarillo de la papa (PYMV)

(Mejía y Dardón 1994).

Es interesante notar que los geminivirus que infectan el frijol se encuentran en cuatro de los siete grupos. Se cree que hay al menos seis virus que infectan al tomate en Centroamérica, México y el Caribe, pero no han sido caracterizados adecuadamente (Mejía y Dardón 1994).

En este estudio también se realizó la identificación con base a sintomatología (en el caso del virus del enanismo del frijol, por medio de pruebas de transmisión). Se utilizaron otras técnicas inmunológicas (ELISA) y moleculares (hibridización con sondas radioactivas o PCR). Los resultados por país se muestran en el cuadro a continuación:

Cuadro No. 3
Virus identificados en Centroamérica y el Caribe hasta 1994 (Tomado de Mejía y Dardón 1994)

Nombre del virus identificado	Cultivo/planta infectada	País
Mosaico dorado del frijol (BGMV)	<i>Phaseolus vulgaris</i> <i>P. acutifolius</i> <i>Calopogon mucura</i> <i>Macroptilium</i> <i>Rhynchosia</i> spp. <i>Sida</i> spp. <i>Euphorbia</i> sp. <i>Erythrina</i> spp.	Guatemala El Salvador Honduras Nicaragua Costa Rica Panamá República Dominicana Haití Cuba Jamaica
Mosaico cálico del frijol (BCMoV)	<i>P. vulgaris</i>	México
Mosaico del kenaf	<i>Hibiscus cannabinus</i> <i>Dature stramonium</i>	El Salvador
Clorosis infecciosa del algodón	<i>Wissadula amplissima</i> <i>Malva parviflora</i> <i>Gossypium hirsutum</i> <i>G. hirsutum</i> <i>Sida</i> spp.	Guatemala República Dominicana Nicaragua
Mosaico amarillento del tomate (TYMV)	<i>Lycopersicum esculatum</i>	El Salvador Costa Rica Panamá
Virus no caracterizado del tomate	<i>L. esculatum</i>	Costa Rica Nicaragua El Salvador Honduras República Dominicana
Virus chino del tomate (CdTV)	<i>L. esculatum</i> <i>Jatropha</i> <i>Gossyfolia</i> <i>Euphorbia</i>	República Dominicana Guatemala El Salvador Costa Rica

Continuación de Cuadro No. 3

Nombre del virus identificado	Cultivo/planta infectada	País
	<i>Heterophilla</i> <i>Sida</i> spp.	
Virus del enrollamiento de la hoja del ayote (SqLCV)	<i>L. esculetum</i>	República Dominicana Guatemala
Virus del acolchamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV)	<i>L. esculetum</i>	República Dominicana
Virus del mosaico dorado del tomate (TGMV)	<i>L. esculetum</i>	República Dominicana
Virus del encrespamiento severo de la hoja del tomate (TSCrV)	<i>L. esculetum</i>	Guatemala Honduras Nicaragua
Virus del encrespamiento de la hoja del tomate (TLCrV)	<i>L. esculetum</i>	México
Grupo de geminivirus en melón	<i>Cucumis melo</i>	Guatemala
Enrolamiento de la hoja del ayote (SqCLV)		Honduras Costa Rica

Por otro lado, hasta el año de 1999, se analizaron varias muestras de tejido vegetal con síntomas de “acolchamiento”, provenientes de Sanarate, Guatemala. En ellas se identificaron tres especies de begomovirus, *Tomato severe leaf curl virus-Guatemala* (ToSLCV-GT), *Tomato mottle virus-Guatemala* (ToMoV-GT) y *Pepper golden mosaic virus-Guatemala* (PepGMV-GT). *Tomato mottle virus-Guatemala* pertenece a la familia AbMV (*abutilon mosaic*) en la cual se encuentran otros virus infecciosos del tomate del hemisferio occidental; *Tomato severe leaf curl virus-Guatemala* y *Pepper golden mosaic virus-Guatemala* pertenecen al grupo filogenético del SqLCV (*Squash leaf curl*) (Mejía 1999).

Todos estos virus se encuentran presentes en infecciones mixtas. *Pepper golden mosaic virus-Guatemala* también fue detectado en tomate y chile pimiento. *Tomato severe leaf curl virus-Guatemala* fue aislado en tomate y pepino, mientras que *Tomato mottle virus-Guatemala* sólo en tomate (Mejía 1999).

En estudios más recientes (2005), se han descrito ocho virus (para tomate y chile) encontrados en Centro América comprenden: PepGMV (*Pepper golden mosaic virus*), PHYVV (*Pepper huasteco yellow vein virus*), ToLCSinV (*Tomato leaf curl sinaloa virus*), ToMHV (*Tomato mosaic Havana virus*), ToMiMoV (*Tomato mild mottle virus*), ToGMoV (*Tomato golden mottle virus*), ToSLCV (*Tomato severe leaf curl virus*) y ToYMoV (*Tomato Yellow mottle virus*). De éstos los más frecuentes en Guatemala son *Pepper golden mosaic virus*, *Pepper huasteco yellow vein virus*, *Tomato leaf curl sinaloa virus* y *Tomato mosaic havana virus* (Nakhla et al. 2005).

Es necesario tomar en cuenta la inminente presencia del virus del enrollamiento de la hoja del tomate (TYLCV) en los países del caribe. Aunque es originario del hemisferio oriental, se han reportado casos en República Dominicana y Jamaica, y no se descarta la posibilidad que se haya esparcido a las otras regiones (Mejía y Dardón 1994). A la fecha ya ha sido confirmado en Guatemala por investigadores, basándose en la sintomatología de la plantas, así como por pruebas de diagnóstico molecular (PCR con cebadores específicos), que lo han confirmado (Solares 2007).

Debido a que la mayoría de los geminivirus se han descubierto recientemente, algunos de ellos no han sido caracterizados completamente y no hay información suficiente. A continuación se listan las especies de begomovirus señalados como causa de virosis en tomate en el hemisferio occidental, documentados los síntomas principales, así como su aparición en otros lugares no mencionados anteriormente (Poltson, J. y K. Anderson 1997).

Cuadro 4
Características de algunos geminivirus que afectan el hemisferio occidental
(Tomado de Anderson y Poltson 1997).

Virus	Distribución conocida	Síntomas en tomate	Otros hospederos (aparte del tomate)
Virus del chino del tomate (CdTV)/Virus rugoso de la hoja del tomate (TLCrV)	México (Chiapas, Morelos, Sinaloa, Tamaulipas)	Rizado severo de la hoja, enrollamiento de la hoja, mosaico amarillo, engrosamiento de las venas, enanismo, reducción en la producción de frutos.	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: El ámbito de hospedantes incluye 19 especies de 4 familias, Campo: no reportado
Virus huasteco del pimentón (PHV)	México (Guanajuato, Quintana Roo, Sinaloa, Tamaulipas), EEUU (Texas)	Aclareo de venas, distorsión leve de las hojas, clorosis, enanismo	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>Capsicum annuum</i> Campo: <i>C. annuum</i>
Virus del mosaico amarillo de la papa (PYMV)	Guadalupe, Martinica, Puerto Rico, Trinidad y Tobago, Venezuela	Moteado clorótico, rizado de la hoja, distorsión de la hoja	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: Especies de <i>Datura</i>, <i>Petunia</i>, <i>Nicotiana</i> Campo: <i>Solanum tuberosum</i>
Virus del mosaico dorado del pimentón Serrano (SGMV)	México (Sinaloa), EEUU (Arizona)	Rizado de la hoja, distorsión de la hoja, enanismo	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>C. annuum</i>, <i>C. frutescens</i>, <i>Datura stamonium</i> Campo: <i>C. annuum</i>, <i>C. Frutescens</i>
Virus del enrollamiento foliar del tomate de Sinaloa (STLCV)	México (Sinaloa)	Clorosis y amarotamiento foliar, rizado de la hoja, internodos reducidos	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>C. annuum</i>, <i>Nicotiana tabacum</i>, <i>Solanum melongena</i>, <i>Malva parviflora</i> Campo: no reportado
Virus taino del moteado del tomate (TTMoV)	Cuba	Rugosidad, deformación y rizado de las hojas, enanismo	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>C. annuum</i> Campo: no reportado
Virus tejano del pimentón (TPV)/Virus del chile jalapeño (PJV)	México (Coahuila, Sinaloa, Tamulipas), Guatemala, EEUU (Arizona, Texas)	Mosaico, rizado de la hoja, enanismo	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>C. annuum</i>, <i>C. frutescens</i>, <i>D. stramonium</i>, 4 <i>Nicotiana spp.</i>, <i>Physalis wrightii</i> Campo: <i>C. annuum</i>, <i>C. frutescens</i>, <i>N. glauca</i>
Geminivirus del tomate BZ-Ub	Brasil (Minas Gerais)	Mosaico Amarillo	No reportados
Geminivirus del tomate BZ-Ig	Brasil (Minas Gerais)	Mosaico Amarillo	No reportados
Virus del mosaico dorado del tomate (TGMV)	Brasil	Mosaico Amarillo	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>D. stramonium</i>, 5 <i>Nicotiana spp.</i>, <i>Physalis sp.</i> Campo: no reportado
Virus del moteado del tomate (ToMoV)	Puerto Rico, EEUU (Florida, ocasionalmente en: Carolina del Sur,	Moteado clorótico, rizado de la hoja, enanismo de la planta, reducción en el	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>Lycopersicon spp.</i>, <i>Phaseolus vulgaris</i> Campo: <i>Solanum viarum</i>

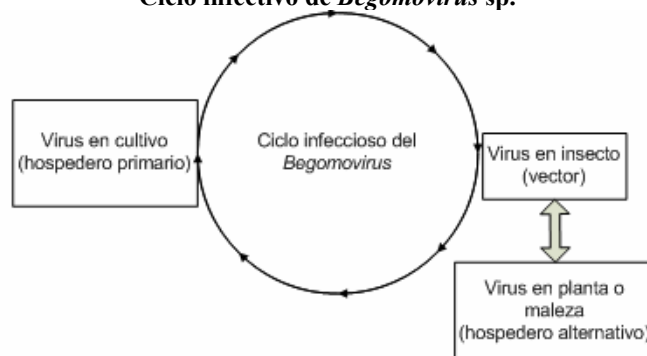
Continuación Cuadro No. 4

Virus	Distribución conocida	Síntomas en tomate	Otros hospederos (aparte del tomate)
	Tennessee, Virginia)	tamaño y número de frutos	
enrollamiento foliar amarillo del tomate (TYLCV)	Cuba, República Dominicana, Jamaica	Reducción el tamaño de la hoja, bordes cloróticos, moteado clorótico, abscisión floral, enanismo severo de la planta	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: el ámbito de hospedantes incluye especies en aproximadamente 10 familias Campo: <i>Boerhavia erecta</i>, <i>Cynanchum acutum</i>, <i>D. stramonium</i> y otras
Virus del mosaico amarillo del tomate (TYMV)	Venezuela	Mosaico amarillo, rizado de la hoja, enanismo	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>D. stramonium</i>, 2 <i>Lycopersicon spp.</i>, <i>Nicandra physaloides</i>, <i>N. tabacum</i>, <i>Petunia hybrida</i>, <i>Physalis peruviana</i> Campo: no reportadas
Virus del moteado amarillo del tomate (ToYMoV)	Costa Rica	Moteado clorótico, distorsión de la hoja, rizado de la hoja, enanismo	No reportados
Virus del rayado amarillo de la nervadura del tomate (ToYVSV)	Brasil (São Paulo)	Mosaico Amarillo, hojas onduladas	<ul style="list-style-type: none"> Experimental: <i>Solanum tuberosum</i> Campo: no reportado
Geminivirus 1 del tomate (TomatoGV1)	Guatemala, Honduras, Nicaragua	Rizado severo de la hoja, moteado de la hoja o clorosis	No reportados
Geminivirus 2 del tomate (TomatoGV2)	Guatemala	No reportados	No reportados

D. Epidemiología.

El triángulo epidemiológico causal de las enfermedades está formado por el medio ambiente, los agentes y el hospedero. Un cambio en cualquiera de estos tres componentes alterará el equilibrio existente para aumentar o disminuir la frecuencia de la enfermedad, por lo tanto se pueden llamar factores causales o determinantes de la enfermedad (Wikipedia 2007). En este caso, el triángulo lo conforma el medio ambiente (el vector *Bemisia tabaci*), el agente infeccioso (*Begomovirus*) y sus hospederos (cultivos y malezas), mostrado en la figura a continuación.

Figura No. 2
Ciclo infeccioso de *Begomovirus* sp.



1. **Hospederos.** Los *Begomovirus* tienen como hospederos más importantes a seis familias de plantas vasculares, las cuales no se consideran cercanamente relacionadas en estudios filogenéticos de familias de plantas angiospermas. Todas pertenecen a diferentes órdenes representando las ramas más importantes de angiospermas con frutos tricolpados. Las Euphorbiaceae (Malpighiales), Fabaceae (Fabales)

y Cucurbitaceae (Cucurbitales) se colocan en la clada I de Eurosidas; las Malvaceae (Sapindales) se colocan en la clada II de las Eurosidas; las Solanaceae (Solanales) se colocan en la clada I de las Euastéridas y las Asteraceae (Asterales) en la clada II de Euastéridas. Todos los géneros a estudiar tienen especies herbáceas (anuales y/o perennes) y crecen en el Nuevo Mundo ya sea como especies nativas, malezas o ruderales (*i.e.*, en sucesiones tempranas), o como especies exóticas introducidas y encontradas en medioambientes primarios alterados. Muchos de estos géneros incluyen cultivos mayores y menores que se encuentran en forma silvestre (Soltis *et al.* 1999).

Las Euphorbiaceae (Malpighiales) es una familia grande (ca. 300 genera, 6,900 especies) que consisten de árboles, arbustos, hierbas, viñas y plantas suculentas encontradas principalmente en áreas tropicales. Contiene algunos cultivos de los que la cassava (*Manihot esculenta*) es ampliamente cultivada. Otros incluyen *Ricinus communis*, y *Cnidioscolus chayamansa*, cultivada ocasionalmente en el Nuevo Mundo como vegetal. Entre las malezas se incluye géneros como *Chamaesyce*, *Phyllanthus* y *Poinsettia* (Soltis *et al.* 1999).

Las Fabaceae *s.l.* (Fabales) es una familia muy grande también, (ca. 630 genera, 18,000 especies) de árboles, arbustos y hierbas. La mayoría de importancia económica y que son tanto cultivo como maleza pertenecen la subfamilia Papilionoideae, que en su mayoría son herbáceas. La mayoría de Mimosoideae y Caesalpinoideae son leñosas, pero cada una de estas subfamilias también poseen plantas herbáceas que son hospederos potenciales de *Begomovirus*. Hay muchos cultivos y particularmente forrajes y hierbas; en esta familia se incluyen las especies siguientes: *Arachis* (maní), *Glycine* (soya), *Lupinus* (lupino), *Medicago* (alfalfa), *Phaseolus* (frijoles), *Trifolium* (trébol), y *Vigna* (cowpea). Después de los cereales, las Fabaceae son probablemente los cultivos más dispersos y abundantes en los agroecosistemas del Nuevo Mundo (Soltis *et al.* 1999).

Las Cucurbitaceae (Cucurbitales) son una familia relativamente pequeña (ca. 120 genera, 825 especies) de casi solo viñas herbáceas, tanto anuales como perennes; encontradas en los trópicos y los subtrópicos. La familia incluye muchos cultivos como son (melón, sandía, güicoy, calabaza, pepinos, chayote, chayote), pero relativamente pocas especies de malezas (Soltis *et al.* 1999).

La familia Malvaceae (Malvales) es otra familia grande (ca. 1100 genera, 1,800 especies) tanto de especies leñosas como herbáceas. Algunos tratamientos recientes combinan las especies Tiliaceae, Sterculiaceae, y Bombacaceae en las Malvaceae *s.l.*; T se incluyen sólo especies generalmente puestos en las Malvaceae. El producto más importante es el algodón (*Gossypium*); también se cultiva la okra (*Abelmoschus esculentus*)

y muchas ornamentales. Muchas plantas son malezas comunes, particularmente las especies de *Abutilon*, *Malva*, *Mavella*, y *Sida* (Soltis *et al.* 1999).

La familia Solanaceae (Solanales) incluyen cerca de 150 genera y 3000 especies; la familia tiene distribución mundial pero es más diversa en los trópicos del Nuevo Mundo. La familia incluye muchos cultivos como tabaco (*Nicotiana tabacum*), tomate (*Solanum esculentum*), papa (*Solanum tuberosum*), chiles (*Capsicum* spp.), berenjena (*Solanum melongena*), y tomatillo (*Physalis ixocarpa*). Además muchas especies son cultivadas como especies medicinales y ornamentales, y finalmente incluye una gran variedad de malezas (e.g., *Solanum*) (Soltis *et al.* 1999).

La familia Asteraceae (Asterales) es la más grande del mundo de plantas vasculares (ca. 1550 géneros, 23,000 especies). Se encuentran en todo el mundo pero principalmente en regiones áridas y semiáridas de zonas templadas y subtropicales. En su mayoría son herbáceas pero incluye algunos árboles, arbustos, viñas y algunas suculentas. Muchos géneros incluyen plantas de la sucesión temprana comunes y abundantes y malezas agrícolas. Hay relativamente pocos cultivos como girasol (*Helianthus annuus*), safflower (*Carthamus tinctorius*), lechuga (*Lactuca sativa*), y alcachofa (*Cynara scolymus*) (Soltis *et al.* 1999).

Desde hace aproximadamente 10 años, las virosis provocadas por geminivirus han afectado seriamente la producción de varios cultivos de importancia económica para Guatemala, entre los cuales se pueden mencionar el tomate, el frijol, especies de curbitáceas, el chile pimiento y la yuca. En la actualidad dichos cultivos también están siendo afectados por la presencia de malezas, tales como escobillo (*Malvastrum coromandelianum*), flor amarilla (*Melampodium dicricatum*), mirasol (*Tithonia rotundifolia*), aceitilla (*Bidens pilosa*), cinco negritos (*Lantana camara*) y chinchiguatillo (*Wedelia acapulcensis*), todos hospederos de estos virus y, por tanto, fuentes importantes del inóculo (Mejía y Dardón 1994).

2. Etiología e incidencia. Los geminivirus se encuentran dentro de los virus de plantas de mayor importancia económica en el mundo actual, no sólo por los daños que causan, sino por la diversidad de cultivos que afectan. Los *Begomovirus*, se han convertido en patógenos emergentes que se han incrementado en número, distribución e importancia en las últimas décadas, siendo considerados la peste del siglo (Martínez *et al.* 2003). En el contexto global, América Latina ha sido la región más afectada en términos de números totales de geminivirus transmitidos por la mosca blanca, número de cultivos afectados, pérdidas en la producción y área devastada por estos patógenos. En la actualidad, alrededor de 5 millones de hectáreas de plantas cultivables en 20 países se encuentran bajo el ataque de más de 30 geminivirus diferentes (Martínez *et al.* 2003).

En América Central, la incidencia es del 100% durante las estaciones secas y las pérdidas pueden alcanzar hasta el 60% de los cultivos. Estas epidemias están asociadas con los cambios en las prácticas de siembra, así como la constante plantación de tomate que aumenta la cantidad de hospederos de su vector natural (*B. tabaci*). Debido a que los cultivos resistentes a esta plaga no están disponibles, la alternativa es la aplicación continua de insecticidas (Nakhla *et al.* 2005).

Tratando de entender la dinámica de este género de virus y la de sus vectores, se ha observado que las malezas y las plantas silvestres pueden tener un papel preponderante en la persistencia de los *Begomovirus* en los cultivos, y sobre todo de las variaciones que se dan entre los mismos. Para terminar de entender esta dinámica es necesario hacer un estudio de estos *Begomovirus* no sólo en malezas sino en plantas silvestres que pueden ser reservorios de estos virus o pueden tener un papel importante en la diversificación de los mismos. Se han encontrado secuencias de *Begomovirus* unidas al genoma de tabaco por ejemplo. Los *Begomovirus* causan en sus hospederos sintomatologías típicas en algunos casos (mosaico dorado o el enrollamiento de las hojas que están más cercanas al meristemo apical). Los *Begomovirus* revierten las células diferenciadas a la fase de replicación (Hanley-Bowdoin 1999) y en los hospederos más susceptibles, suprimen las respuestas de resistencia innatas mediadas por ARN para lograr obtener altas concentraciones de virus en la replicación (Bridson *et al.* 1990).

Los *Begomovirus* también poseen rangos de hospederos estrechos comparados con su vector que es polífago y su rango de hospederos es muy amplio. El ejemplo más extremo es el virus del mosaico dorado de la región caribeña que parece que está restringido únicamente a frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). En cambio el Cotton leaf curl virus de Pakistán y el Tomato yellow leaf curl virus de Israel (Polston *et al.* 1997), parecen que infectan numerosas especies en múltiples familias.

La transmisión de *Begomovirus* es llevada a cabo por *B. tabaci* de una manera circulativa y persistente, sin embargo no es replicativa en la mayoría de los casos. Las interacciones entre el virus y el vector se piensa que involucran reconocimiento mediado por receptores y la protección del sistema inmunológico del vector se lleva a cabo por una chaperonina que está presente en altas concentraciones en la hemolinfa del vector y se piensa que es sintetizada por un simbiote procariota (análoga a *Buchnera* en áfidos) (Rosell *et al.* 1999). Es predominantemente polífaga aunque hay algunas monófagas que transmiten *Begomovirus*. Este vector es el que determina en mayor grado, el rango de hospederos que es expuesto a un virus específico. En segundo lugar, la capacidad del virus a adaptarse y replicarse y las defensas del hospedero alteradas, determinan si un virus puede establecer una infección sistémica. Por esto, se espera que de esta manera las interacciones hospedero-virus influyan grandemente en la selección genética y en el destino

evolutivo de la población del virus. Hay evidencias que para ciertas combinaciones de planta-virus, la capacidad del hospedero está gobernada en parte por un patógeno viral.

3. Variabilidad de los *Begomovirus*. Los rangos de la variabilidad genética varían mucho, haciendo difícil el discernimiento entre aislados y cepas, y entre cepas y especies, cuando se emplea la definición establecida para diferenciar la taxonomía de *Begomovirus*. Ésta sí se basa en la predicción del porcentaje de identidad de nucleótidos, donde los valores >96% = aislado; >89%= cepa, y =<89% = una especie diferente (Pringle y Mayo 1996).

Los *Begomovirus* se distribuyen en habitats subtropicales y tropicales tanto en malezas como en cultivos. Son de interés fundamental debido a la variedad de nuevos mecanismos que utilizan en su diversificación y patogenicidad a plantas hospederas. Los *Begomovirus* han mostrado que pueden reacondicionarse mediante el intercambio de cromosomas o a través de recombinación cuando ocurren en mezclas (Bisaro 1996; Harrison y Robinson 1999). Tanto los hospederos como el vector estimulan directamente la evolución de los virus, que ocurre principalmente a través de la recombinación genética (Frishmuth and Stanley 1993; Harrison *et al.* 1999; Padidam *et al.* 1999; Zhou *et al.* 1998^a, 1998b) y reacondicionamiento cromosomal (Hou *et al.* 1996) seleccionado primero por el hospedero y después por el vector.

La mayor parte de la información del rango de hospederos y de los paradigmas que tienen que ver con la evolución y las relaciones filogenéticas y los mecanismos de diversificación, proviene de estudios en *Begomovirus* que representan un problema agrícola. Este sesgo ha contribuido a proporcionar una visión errónea de la estructura y la diversificación de los *Begomovirus*. La mayoría de estos virus fueron estudiados no en el cultivo original, sino ya después de haber estado en relación con un vector y un hospedero secundario. También se han estudiado los virus luego de que se ha dado una variación genética que los especializó con respecto al resto de la población original y sufrió modificaciones debido a las interacciones con virus-hospedero. Sin embargo, es claro que los *Begomovirus* y sus hospederos se han coadaptado tanto en hospederos cultivados como en hospederos silvestres, permitiendo esto ciclos de infección y transmisión exitosas por el vector a otros hospederos, así como cocompetencia entre *Begomovirus* y vector (Brown y Czosnek 2002).

Los genotipos de los *Begomovirus* forman dos cladas, no importando si son mono o bipartitos (Padidam *et al.* 1995 y Rybicky 1994). Se cree que los virus del viejo mundo constituyen la taxa basal para el género, sin embargo no es un grupo monofilético y puede haber ocurrido una divergencia hace mucho tiempo no dejando récord evolutivo (Brown *et al.* 2000).

Típicamente las filogenias de *Begomovirus* se han basado en el genoma monopartito completo y en el componente A de los bipartitos. El componente B como es muy variable, se ha considerado poco

informativo. Cuando no se conoce la secuencia completa del cromosoma viral, la región más conservada es el gen de la cápside (Coat protein-Cp) (Pringle y Mayo 1996) o un fragmento informativo del Cp de 533 a 536 bases, llamado *core protein* (Brown *et al.* 2000). Este último fragmento se considera filogenéticamente informativo, haciendo énfasis que al comparar las filogenias obtenidas con el Cp o con el “core”, éstas son concordantes. Esto no toma en cuenta regiones de cromosomas que pudieron resultar de recombinaciones, donde secuencias no necesariamente relacionadas con *Begomovirus* se han intercambiado (Bisaro 1994; Zhou *et al.* 1997).

Otras fuentes de variabilidad genética que se conocen influyen en la variabilidad de *Begomovirus* y por ende diversificación, incluye mutaciones debido a errores de ADN polimerasa, rearrreglo de cromosomas para genomas bipartitos y en caso de algunos, utilización de genomas monopartitos no de *Begomovirus* derivados de ADN satélites (Bridson *et al.* 1990; Idris *et al.* 2002) y/o moléculas defectuosas que interfieren y que son de más velocidad de replicación (Harrison *et al.* 1999).

Árboles filogenéticos de *Begomovirus* y su vector, sugieren una relación larga entre ambos y por esto una coevolución íntima, y esto ha dado como resultado vectores que podían transmitir un sólo *Begomovirus* que ahora transmitan más, lo que al parecer también puede estimular cambios en el rango de hospederos del virus. Además, las variantes del vector pueden estudiarse en otros rasgos adaptativos incluyendo la fecundidad y comportamiento de dispersión, diferentes endosimbiontes que se piensa influyen en la capacidad de adaptación de la mosca blanca, susceptibilidad a enemigos naturales e insecticidas entre otros. Todo esto influye indirectamente en la evolución de *Begomovirus* (Palmieri *et al.* 1999, 2000).

Tanto los hospederos como el vector estimulan directamente la evolución de los virus, ya sea a través de recombinación genética (Frishmuth y Stanley 1993) o reacondicionamiento cromosomal (Hou *et al.* 1996), lo que resulta de gran interés dado que incide de forma directa en los nuevos mecanismos que utilizan para su diversificación y patogenicidad a plantas hospederas. El estudio de una muestra grande de genomas de *Begomovirus* presentes en plantas cultivadas, plantas silvestres y malezas, permitirá identificar segmentos del genoma involucrados en el intercambio genético y brindará información sobre las asociaciones a los hospederos.

En Guatemala ya se han llevado a cabo algunos estudios de mosca blanca y geminivirus en cultivos. Se ha mostrado que hay una gran variabilidad y múltiples especies de hospederos (plantas en cultivos extensos) que presentan síntomas del virus. Estudios preliminares hechos con colaboración de la Dra. Brown, indican una diversidad viral grande y presencia de diversos biotipos de *B. tabaci*. Son estos estudios los que nos han llevado a cuestionarnos el origen de estos *Begomovirus* ya que cada vez que los estudiamos en cultivos, aparecen nuevos representantes (Palmieri *et al.* 1999, 2000).

En Guatemala se han hecho estudios de *Begomovirus* y de sus vectores, *B. tabaci*, en tres años aunque no consecutivos, en cultivos de importancia para exportación. Estos estudios indican que existe alta incidencia de *Begomovirus* en ellos y cada vez que se ha muestreado aparecen *Begomovirus* nuevos, no reportados. Los análisis de la secuencia del “core” o la secuencia completa de la cápside de virus estudiados de México y Centro América revela una inesperada abundancia de especies, cepas y aislados en Guatemala (Brown y Palmieri 2001) y en el sur de México, sugiriendo que esta región puede ser el centro de diversificación del Nuevo mundo (Brown 2001).

E. Importancia de los *Begomovirus*

1. **Enfermedades causadas por *Begomovirus*.** Se han encontrado aprox. 20 *Begomovirus* (clasificados según la posición 805 del N-terminal del gen *Rep*). Sin embargo, en Centro América únicamente se han descrito 8 de éstos (para tomate y chile):

- PepGMV (Pepper golden mosaic virus)
- PHYVV (Pepper huasteco yellow vein virus)
- ToLCSinV (Tomato leaf curl Sinaloa virus)
- ToMHV (Tomato mosaic Havana virus)
- ToMiMoV (Tomato mild mottle virus)
- ToGMoV (Tomato golden mottle virus)
- ToSLCV (Tomato severe leaf curl virus)
- ToYMoV (Tomato yellow mottle virus)

(Nakhla *et al.* 2005)

Se han llevado a cabo estudios para determinar la incidencia de estos virus en plantas por medio de PCR o hibridización. En el siguiente cuadro se muestra la incidencia de virus descritos en Centro América:

Cuadro No. 5
Incidencia de *Begomovirus* encontrados en Centro América
(Tomado de Nakhla *et al.* 2005)

Lugar y fecha	Porcentaje de incidencia (%)							
	Gènero <i>Begomovirus</i>	ToSLCV	ToGMoV	ToMiMoV	ToMHV	ToYMoV	ToLSinV	PepGMV
Guatemala								
1999	58	17	0	0	0	0	0	8
2000	92	38	62	31	23	0	15	8
2001	100	100	100	0	100	0	0	0
2002	100	100	80	40	20	0	60	20
2003	100	85	62	23	31	0	23	31
2004	100	81	100	50	50	0	13	13

CONTINUACIÓN Cuadro No. 5

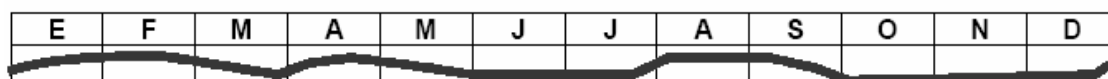
Lugar y fecha	Porcentaje de incidencia (%)							
	Gènero <i>Begomovirus</i>	ToSLCV	ToGMoV	ToMiMoV	ToMHV	ToYMoV	ToLSinV	PepGMV
Honduras								
1999	100	50	0	0	63	0	0	0
1999	100	75	0	0	100	0	0	0
Costa Rica								
1994	100	0	0	0	0	100	0	0
1996	100	0	0	0	0	33	67	0
Nicaragua								
1992	100	0	0	50	0	0	50	0

El estudio fue realizado con plantas que presentaban síntomas por *Begomovirus*, la detección se realizó por medio de cebadores o sondas específicos a cada tipo de virus, además de cebadores degenerados para detección de *Begomovirus* general. No se realizó la detección para PHYVV (Nakhla *et al.* 2005).

2. El cultivo del tomate. En promedio al año se cosechan entre 5.800 y 7.100 hectáreas y las variedades que se utilizan principalmente son Roma, Sheriff, Helios, Silverado, Zenith. El ciclo vegetativo es de 90 a 120 días, el área cosechada varía entre 5.800 – 7.100 (ha/año) y la producción varía entre 172.300 – 189.500 (tm/año) (Arias 2003).

De acuerdo con la información publicada por la Unidad de Políticas e Información Estratégica de Guatemala con respecto a la producción de tomate en ese país (figura 2), se tiene que en ese país hay cosechas de tomate todo el año, presentando como épocas más importantes los meses de enero, febrero, abril, mayo y agosto y septiembre (Arias 2003).

Figura No. 3
Épocas de cosecha de tomate en Guatemala (Tomado de Arias 2003)



En Guatemala, se siembran aproximadamente 10, 000 manzanas de tomate. Entre las principales zonas productoras de este cultivo se encuentran Salamá, Monjas, Laguna de Retana, El progreso, El Amatillo, Ipala, Esquipulas, Gualán, Santa Rosalía, Zacapa, Agua Blanca, Asunción Mita, Sanarate, Amatitlán, Villa Nueva, San Raymundo, Sumpango, Nueva Concepción, Santa Rosa y Quiché. Además hay pequeñas plantaciones en todo el país. En cuanto a empleos, el cultivo de tomate, genera 15,000 en su producción y 10,000 en su comercialización (Palmieri *et al.* 2005).

El rendimiento promedio por manzana es de 1,200 cajas de 50 libras. Es un cultivo que responde a la implementación de alta tecnología en su producción (Palmieri *et al.* 2005). Tomando un precio base de Q3.00 por libra de tomate para el mercado nacional, se genera un monto aproximado de Q1,800 millones al año.

En Salamá se cultivan 2000 manzanas - equivalentes a 1400 ha (1 Mz = 0,7 ha)- de tomate. Los productores se estratifican en grandes (mas de 10 Mz.), medianos (5 a 10 Mz) y pequeños (menos de 5 Mz). Una buena productividad se considera a 2000 cajas de 50 libras por manzana (equivalente a unos 65 mil kg/ha), mientras que la media es de solamente 1000 cajas. Identifica como el problema de mayor importancia a las deficiencias de manejo del cultivo, aunque presenta como problemas serios a las bacteriosis, fungosis, y virosis (principalmente geminivirus) (MAGA 2006).

Para la región de Jutiapa, se estimó que se cultivarían unas 2000 Mz (1400 ha). En Esquipulas se reportan 200 ha de tomate. De la entrevista y la visita al terreno, queda muy claro el problema del complejo mosca blanca asociado a las virosis. El potencial de producción regional es muy superior a los niveles actuales. La apertura del mercado a otros destinos, la agroindustria de la pasta de tomate y la exportación tendrían un alto impacto regional y nacional. El costo de producción se informa en 40 mil Qz/Mz (MAGA 2006).

Cuadro No. 6
Costo adicional que causan las enfermedades por geminivirus en el cultivo de tomate en Guatemala (Tomado de FASAGUA 2007)

Rubro	Ideal (sin virosis)	Real (con problemas de virosis)
Rendimiento (Cajas/Mz)	1500 - 2500	200 – 1000
Costo de producción (Q/ manzana)	40,000 – 50,000	50,000 – 80,000
Costo de Producción (Q/Caja)	12-25	40 – 80

El cultivo de tomate podría ser de mucha importancia para Guatemala, al acceder a los mercados de México y Estados Unidos. Con éstos se podría incrementar considerablemente el área sembrada actualmente. Al minimizar los costos por virosis, puede ser considerado un cultivo para exportación (especialmente en los mercados de México y Estados Unidos). Se estima que al exportar tomate y chile pimiento (ambos hospederos de geminivirus) se podrían generar alrededor de 20 a 30 millones de dólares en divisas y 20 mil empleos directos (en un plazo de 5 años). El tomate y chile guatemalteco además de tener el acceso a Estados Unidos, el mayor mercado se exportaría a Canadá, México y la región Centroamericana (MAGA 2006).

F. Medidas de nichos y preferencias de recursos.

El análisis de la dinámica de comunidades depende en parte de la medición de cómo los organismos utilizan su ambiente. Una forma de realizar esto es a través de la medición de parámetros de nicho de una población y comparar el nicho de una población con el de otra. Dado que la comida es una de las dimensiones más importantes de un nicho, el análisis de la dieta animal está cercanamente relacionado con el problema de las especificaciones de nichos (Krebs 1999).

Antes de decidir en la medida apropiada del tamaño de nicho y la preferencia de dieta, se debe considerar con cuidado qué preguntas se desean responder con estas medidas. La hipótesis debe dirigir las medidas y las maneras en que los datos en bruto serán resumidos (Krebs 1999).

La medición de parámetros de nicho es bastante directa, una vez que se ha tomado la decisión de qué recursos incluir. La pregunta sobre la definición de un estado de recurso puede subdividirse en tres preguntas (Colwell y Futuyma 1971). Primero, ¿qué rango de estados de recurso deberá incluirse? Segundo, ¿cómo deberían tomarse las muestras a través de este rango? Y tercero, ¿cómo se puede analizar las dimensiones no lineales de los nichos? (Krebs 1999).

Los estados de recurso pueden definirse en una variedad de formas (Krebs 1999):

- Recursos alimenticios: puede utilizarse como un estado de recurso la identidad taxonómica de la comida, o la categoría de tamaño de los elementos alimenticios (sin importancia de la taxonomía).
- Recursos de hábitat: los hábitats para los animales pueden definirse botánicamente o a partir de datos en una serie de estados de recurso.
- Unidades de muestreo natural: las unidades de muestreo como los lagos, las hojas o frutas individuales pueden definirse como estados de recurso.
- Unidades de muestreo artificial: un set de cuadrantes puede considerarse para reunir distintos estados de recurso.

1. Amplitud de nicho. Algunas plantas y animales son más especializados que otros, y las medidas de amplitud de nicho pretenden medir esto cuantitativamente. La amplitud de nicho también ha sido denominada ancho de nicho o tamaño de nicho por los ecologistas. La amplitud de nicho puede medirse al observar la distribución de organismos individuales dentro de un grupo de estados de recursos (Krebs 1999).

a. La medida de Levins. Levins (1968) propuso que la amplitud de nicho puede estimarse al medir la uniformidad de la distribución de individuos entre los estados de recurso. Sugirió una manera de medir esto (Krebs 1999):

$$B = \frac{1}{\sum p_j^2} \quad \text{que también puede expresarse como} \quad B = \frac{Y^2}{\sum N_j^2}$$

Donde B = Medida de amplitud de nicho de Levin
 p_j = Proporción de individuos encontrada en o utilizando el estado de recurso j , o la fracción de elementos en la dieta que son de la categoría de comida j

$$\text{estimada por } \frac{N_j}{Y} \text{ donde } \sum p_j = 1.0$$

N_j = Número de individuos encontrados en o utilizando el estado de recurso j .

$Y = \sum N_j$ = Número total de individuos muestreados.

Cabe notar que B es el recíproco del índice de diversidad de Simpson. Como el recíproco del índice de Simpson, B es máximo cuando un número igual de individuos ocurre en cada estado de recurso, de tal manera que la especie no discrimina entre los estados de recurso y tiene el nicho más amplio posible. El B de Levins es mínimo cuando todos los individuos ocurren en un solo estado de recurso (amplitud de nicho mínima, máxima especialización) (Krebs 1999).

Es de frecuente utilidad estandarizar la amplitud de nicho para expresarla en una escala de 0 a 1.0. Esto puede efectuarse fácilmente para la medida de Levins al dividir B por el número total de estados de recurso después de corregir para un número finito de recursos. Hurlbert (1978) sugiere la siguiente medida para estandarizar la amplitud de nicho (Krebs 1999):

$$B_A = \frac{B-1}{n-1}$$

Donde B_A = Amplitud de Nicho de Levins estandarizada
 B = Amplitud de Nicho de Levins
 n = Número de posibles estados de recurso

b. Medida de Shannon –Wiener. Colwell y Futuyma (1971) sugirió utilizar la fórmula de Shannon-Wiener a partir de la teoría de la información para medir la amplitud de nicho. Dada la matriz de recurso, la fórmula es (Krebs 1999):

$$H' = -\sum p_j \log p_j$$

donde H' = Medida de amplitud de nicho de Shannon - Wiener

p_j = Proporción de individuos encontrados en o utilizando el recurso j , ($j = 1,2,3,..n$)

n = Número total de estados de recurso

Cualquier base logarítmica puede ser empleada. Dado que la medida de Shannon-Wiener tiene un rango desde 0 hasta ∞ , podría desearse estandarizarlo en una escala de 0-1. Esto puede realizarse utilizando la medida de uniformidad J' (Krebs 1999):

$$J' = \frac{\text{Medida de Amplitud de Nicho de Shannon observada}}{\text{Valor máximo posible de la medida de Shannon}} = \frac{H'}{\log n}$$

donde J' = Medida de uniformidad de la función de Shannon - Wiener

n = Número total de estados de recurso

Puede emplearse la misma base logarítmica en ambas ecuaciones. La función de Shannon – Wiener es utilizada con menor frecuencia que la medida de Levins de la amplitud de nicho. Hurlbert (1978) arguye en contra del uso de la medida de Shannon – Wiener dado que no tiene una interpretación ecológica simple; prefiere la medida de amplitud de nicho de Levins. La anterior le da más peso relativo a los recursos escasos utilizados por una especie; por otra parte, la medida de Levins da más peso a los recursos de mayor abundancia empleados (Krebs 1999).

2. Número de recursos frecuentemente usados. La manera más simple de medir la amplitud de un nicho es por medio del conteo de los recursos más utilizados en comparación a una cantidad mínima. Un valor razonable para el corte para muchas especies puede ser el 5% para que el número de recursos frecuentemente usados siempre sea de 20 o menos (Krebs 1999).

3. Traslape de nichos. Un paso hacia el entendimiento de la organización de comunidades es la medición del traslape en el uso de recursos entre diferentes especies en un grupo de dicha comunidad. La medida de recursos más frecuentemente empleada para calcular el traslape son la comida y el espacio (microhabitat) (Krebs 1999).

a. Medida de McArthur y Levins. Una de las primeras medidas propuestas fue la de McArthur y Levins (1967) (Krebs 1999):

$$M_{jk} = \frac{\sum_i^n p_{ij} p_{ik}}{\sum_i^n p_{ij}^2}$$

donde M_{jk} = Medida de McArthur y Levins para el traslape de nicho de la especie k en la especie j

p_{ij} = Proporción del recurso i del total de recursos usado por la especie j

p_{ik} = Proporción del recurso i del total de recursos usado por la especie k

n = Número total de estados de recurso

Cabe notar que esta medida de traslape no es simétrica. Para compensar esto Pianka estableció la siguiente medida simétrica (Krebs 1999):

$$O_{jk} = \frac{\sum_i^n p_{ij} p_{ik}}{\sqrt{\sum_i^n p_{ij}^2 \sum_i^n p_{ik}^2}}$$

donde O_{jk} = Medida de Pianka para el traslape de nicho de la especie k y la especie j

p_{ij} = Proporción del recurso i del total de recursos usado por la especie j

p_{ik} = Proporción del recurso i del total de recursos usado por la especie k

n = Número total de estados de recurso

Ésta es una medida simétrica del traslape, de tal manera que el traslape entre la especie A y la especie B es idéntica al traslape de la especie B en la especie A. La medida tiene un rango desde 0 (ningún recurso en común) hasta 1.0 (traslape total) (Krebs 1999).

b. Porcentaje de Traslape. El porcentaje de traslape es idéntico al porcentaje de similaridad propuesto por Renkonen (1938) y es una de las medidas más simples y atractivas de traslape de nicho. Esta medida se calcula como un porcentaje y es dado por (Krebs 1999):

$$O_{jk} = \left[\sum_i^n (\text{mínimo } p_{ij}, p_{ik}) \right] 100$$

donde P_{jk} = Porcentaje de traslape de nicho de la especie k y la especie j

p_{ij} = Proporción del recurso i del total de recursos usado por la especie j

p_{ik} = Proporción del recurso i del total de recursos usado por la especie k

n = Número total de estados de recurso

El porcentaje de traslape es la medida más simple de interpretar el traslape de nicho, ya que es una medida del área actual de traslape de las curvas de utilización de recurso de las dos especies (Krebs 1999). Abrams (1980) lo recomienda como la mejor medida de traslape de nicho. Una de las fortalezas de la medida de Renkonen es que no es sensible a cómo estén divididos los estados de recurso (Krebs 1999).

c. Índice Simplificado de Morisita. El índice simplificado de Morisita, propuesto por Horn (1966), es otro índice de similaridad que puede ser usado para medir el traslape de nicho. A veces, también es llamado el índice de Morisita-Horn. Se calcula acorde a la siguiente expresión (Krebs 1999):

$$C_H = \frac{2 \sum_i^n p_{ij} p_{ik}}{\sum_i^n p_{ij}^2 + \sum_i^n p_{ik}^2}$$

donde C_H = Índice Simplificado de Morisita (Horn 1966) entre especie j y especie k

p_{ij} = Proporción del recurso i del total de recursos usado por la especie j

p_{ik} = Proporción del recurso i del total de recursos usado por la especie k

n = Número total de estados de recurso ($i = 1, 2, 3, \dots, n$)

El índice de Morisita simplificado es bastante similar a la modificación de Pianka a la medida de McArthur y Levins para el traslape de nichos, habiéndose demostrado que para un amplio rango de poblaciones simuladas, los valores obtenidos para el traslape son casi idénticos entre ambas medidas (Krebs 1999).

McArthur (1968) indicó que el traslape cero entre nichos no significaba la ausencia de competencia interespecífica. Abrams (1980) remarca que el traslape de nicho no siempre implica competencia, y que en muchos casos el traslape de nichos debería utilizarse como una medida descriptiva de la organización de la comunidad (Krebs 1999).

XIII. JUSTIFICACIÓN

El estudio de los *Begomovirus* ha tomado gran importancia en los últimos años, debido a su papel como parásitos intracelulares de las plantas superiores. Los habitats subtropicales y tropicales son propicios para su desarrollo y replicación, siendo así el nuevo mundo un lugar ideal para su proliferación. De ahí que actualmente se encuentren dentro de los virus de mayor importancia económica que afectan a las plantas, no solamente por los daños que pueden causar a los cultivos, sino también por la diversidad de cultivos que afectan. Los *Begomovirus* se han convertido en patógenos emergentes, que se han incrementado en número, distribución e importancia en las últimas décadas, llegando a ser considerados la peste del siglo (Martínez *et al.* 2003).

Tratando de entender la dinámica de este género de virus y la de sus vectores, se ha observado que las malezas y las plantas silvestres pueden tener un papel preponderante en la persistencia de los *Begomovirus* en los cultivos y, sobre todo, en las variaciones que se encuentran en los mismos. Este estudio es una contribución al entendimiento de la dinámica de los *Begomovirus* en las malezas, siendo éstas hospederos alternos (no por ello menos importantes), que actúan como posibles reservorios y contribuyen a la dispersión del virus hacia los cultivos agrícolas.

Por otro lado, el acoplamiento maleza-virus, puede ser un factor determinante para establecer la diversificación de los mismos, ya que en la actualidad la mayor parte de los estudios hechos se han dirigido a especies cultivadas y no a plantas silvestres o malezas. Debido a esto, gran cantidad de los *Begomovirus* no identificados podrían estar correlacionados a hospederos nativos (malezas o plantas silvestres), y su conocimiento permitiría conocer la procedencia de los mismos, localizados en los cultivos en toda época. Este tipo de información será de mucho valor, proveyendo al técnico o al agricultor el conocimiento sobre los lineamientos y conceptos generales que pueden influir en la transmisión de los virus, al mismo tiempo que le capacitará para encontrar métodos preventivos específicos con los cuales solucionar los problemas de la infección por estos virus.

La información generada con este proyecto resulta de utilidad para la realización de estudios posteriores, a fin de enfocar esfuerzos en el desarrollo de métodos de control y prevención, gracias a la información sobre los hospederos alternos y su posible relación tanto con el vector como con los cultivos. En última instancia, se obtendrá un mejor conocimiento sobre el ciclo de los *Begomovirus* que puede facilitar el desarrollo de variedades resistentes, mediante ingeniería genética, con el fin de reducir el daño de los virus en las especies cultivadas.

En la última década los geminivirus han afectado seriamente la producción de varios cultivos de importancia económica para Guatemala, extendiéndose desde los cultivos tradicionales a los no tradicionales. En estudios hechos por Mejía en el año 1994, se ha visto que las malezas son portadoras del virus y en varios casos facilitan la propagación de los *Begomovirus*. Cabe mencionar que el conocimiento de las malezas que funcionan como reservorios del virus, será de gran ayuda para el agricultor, debido a que podrá identificar con facilidad la presencia de éstas dentro o en las cercanías de sus cultivos. De ésta forma podrá evitar la propagación hacia dichas siembras, mediante la eliminación directa de la fuente de inóculo.

El resultado esperado a largo plazo, es mejorar el manejo de las enfermedades transmitidas por moscas blancas, reducir las pérdidas económicas, tener una producción más efectiva, tanto en costo como en calidad, hacer menos daño al ambiente por el abuso en la aplicación de pesticidas, único medio actualmente disponible para el control de las moscas blancas y los virus que ellas transmiten.

XIV. OBJETIVOS

A. Generales

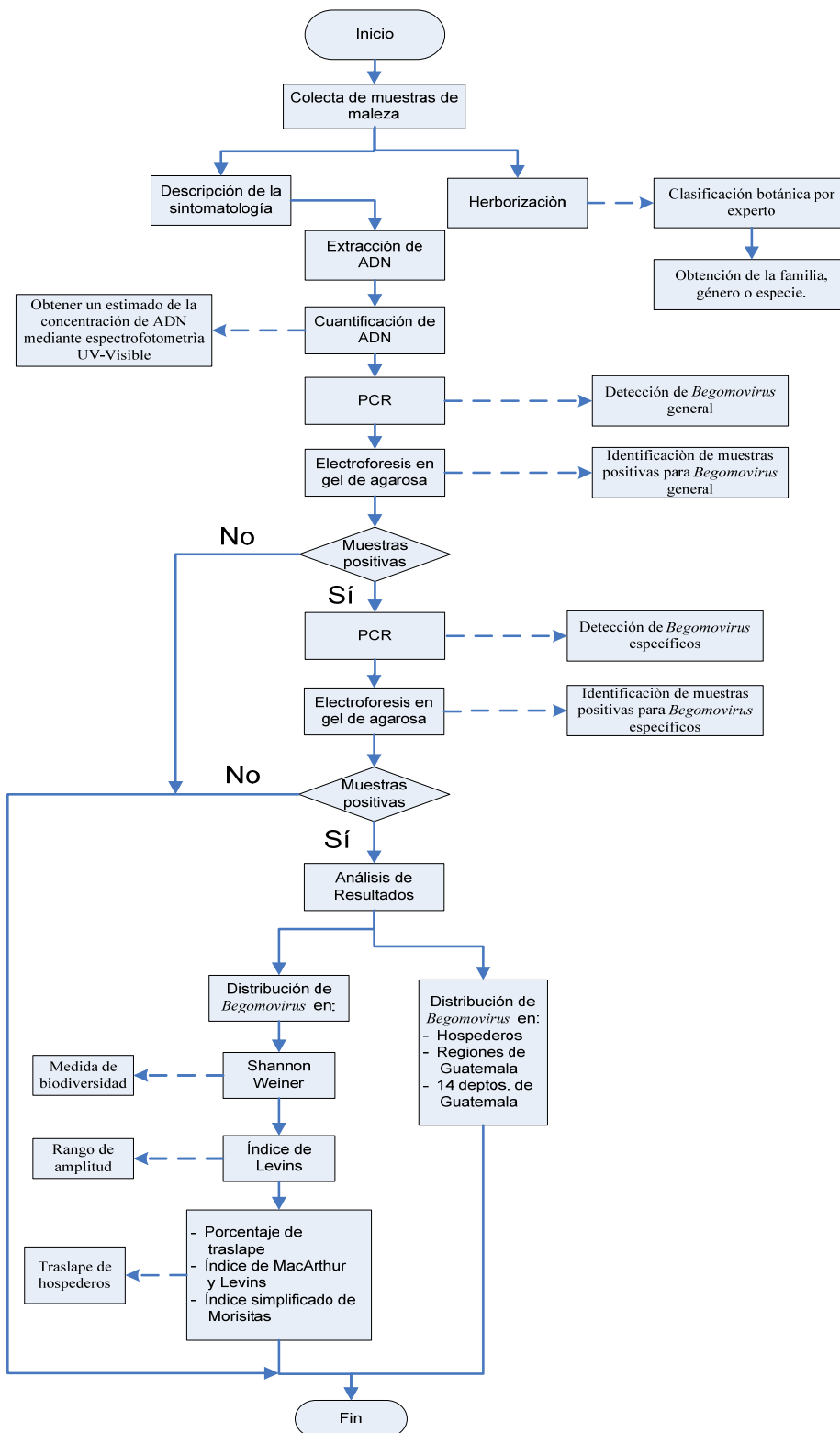
1. Generar el primer inventario de la diversidad de *Begomovirus* para el país, asociados a especies de hospederos no cultivadas, es decir, silvestres y malezas, en áreas con diferente riqueza de hospederos.

B. Específicos

1. Extraer ADN de las muestras de malezas colectadas entre enero y abril de 2006 alrededor de campos productores de solanáceas y cucurbitáceas.
2. Amplificar la región central del gen de la proteína de la cápside (CP) de los *Begomovirus* con iniciadores degenerados a partir del ADN extraído.
3. Amplificar fragmentos específicos de siete diferentes especies de *Begomovirus* que han sido identificados en América Central, a partir del ADN de las muestras en las que se amplificó el fragmento del gen CP.
4. Elaborar un inventario de los diferentes *Begomovirus* presentes en las malezas encontradas alrededor de cultivos susceptibles a infección por *Begomovirus*.
5. Proporcionar un mapa con los puntos de muestreo en que se encontraron los diferentes *Begomovirus* asociados a las malezas.
6. Asociar hospederos de mosca blanca con hospederos de *Begomovirus*.
7. Proporcionar una fuente de información para el diseño de cebadores específicos, que sirvan en la detección de nuevos *Begomovirus* importantes.
8. Relacionar datos encontrados en malezas y plantas silvestres con datos anteriores, procedentes de cultivos, para establecer posibles relaciones en la dinámica de la transmisión de los *Begomovirus* en las diferentes regiones.

XV. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Esquema General de la Metodología



B. Materiales y equipo

Comprende los reactivos, equipo y otros materiales empleados durante el trabajo de laboratorio, y que fueron necesarios para llevar a cabo cada uno de los pasos descritos en la metodología. Las tablas detalladas se muestran en los cuadros No.46 al 48, del apéndice E.

C. Métodos

1. Muestreo. El procedimiento abarcó dos fases. En la primera fase la colecta contemplaron 36 fincas distribuidas en 13 de los departamentos del país (ver cuadro No. 18 del apéndice A, hasta la muestra 835). La colecta la llevó a cabo el personal del laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala, perteneciente al proyecto línea AGROCYT 049-2004 titulado Biodiversidad (análisis filogeográfico y diversidad genética) de *Begomovirus* en malezas y plantas silvestres en Guatemala. Se colectaron tanto las malezas que presentaron sintomatología como las asintomáticas, presentes en las cercanías de cultivos, principalmente de solanáceas (tomate y chile). Las giras de campo se iniciaron el 21 de enero de 2006, fecha a partir de la cual se hicieron con un espaciamiento de 15 días, y se terminaron el 6 de abril del mismo año. La segunda fase comprendió una última gira de campo que se llevó a cabo del 22 al 24 de agosto del año 2007, comprendiendo dos departamentos (El progreso y Baja Verapaz) y 9 fincas más, con lo que se completó un total de 14 departamentos diferentes (ver figura No. 36 y cuadro No. 18 desde la muestra 836, del apéndice A). De cada muestra colectada se tomaron datos del departamento, municipio, cultivo agrícola y coordenadas (geográficas y altura sobre el nivel del mar, empleando GPS), además de la descripción de los síntomas que presentaba cada una (ver cuadros No. 17 y 18 del apéndice A). Para cada caso, se trató de tomar la mayor cantidad de cada maleza, de la cual la mayor parte se utilizó para herborizar; el resto del material vegetal se colocó en una bolsa zip lock debidamente identificada. El transporte de estas bolsas al laboratorio se hizo manteniendo una temperatura de 4°C. Posteriormente se liofilizaron las muestras y se almacenaron a 4°C con desecante hasta su utilización. En el caso de la última gira de campo la extracción se hizo de forma directa antes de llevar a cabo el proceso de liofilización. Se llevó a cabo la distribución del los departamentos en áreas (central norte, este, occidente, sur y costa Sur) según su localización en el país (ver cuadro No. 16 del apéndice A)

2. Extracción de ADN de malezas. La extracción del ADN procedente de tejido foliar de malezas se realizó a partir de las modificaciones hechas a los procedimientos propuestos por Faria, J., Maxwell, D., 1999 y Hassan, F., *et.al*, 2000, tal como se muestra en el cuadro a continuación.

Cuadro No. 7
Protocolo para la extracción de ADN a partir de malezas

1. En un tubo de 1.5 ml colocar de 5 a 15 mg de tejido foliar y agregar 750 μ l de buffer de extracción (100mM Tris-HCl pH 8, 50mM EDTA, 500mM NaCl, 10mM 2-mercaptoetanol y 1.33% de SDS). Adicionar 2 ó 3 perlas de vidrio para macerar, e invertir el tubo a modo que se intercalen entre el tejido vegetal. Colocar los tubos en un vortex y macerar por 15 minutos, teniendo en cuenta una mezcla manual durante el proceso, con el fin de asegurarse que exista suficiente buffer y que las perlas tengan movimiento. De forma alterna el la maceración puede hacerse de forma manual con un macerador automático.
2. Agregar 300 μ l de acetato de amonio 7M pH 8 e incubar en hielo por un período de 10–30 minutos. Centrifugar a 13,000 rpm por 20 min a 4°C.
3. Transferir el sobrenadante a otro tubo y realizar una extracción volumen a volumen con fenol:cloroformo:isopentanol (25:24:1). Centrifugar a 13,000 rpm por 10 min a temperatura ambiente.
4. Transferir el sobrenadante a otro tubo. Y precipitar el ADN con 0.6 volúmenes de isopropanol, por al menos 20–30 minutos a –20°C, si es posible dejar durante una noche.
5. Centrifugar 10 minutos a 10,000 rpm y lavar el precipitado con 450 μ l de etanol al 95%.
6. Centrifugar 10 minutos a 10,000 rpm y lavar el precipitado con 200 μ l de etanol al 70%. Dejar reposar por dos minutos, y centrifugar bajo las mismas condiciones.
7. Decantar y secar el precipitado. Resuspender el pellet en 75 μ l de agua de PCR.

3. Cuantificación de ADN. Para cuantificar el ADN extraído se utilizó el equipo y los reactivos descritos en el cuadro No. 19 del apéndice B. No se cuantificó cada muestra de forma individual, se escogió al azar una muestra por cada cincuenta, y se realizó la cuantificación, a fin de tener un estimado de la concentración promedio y la variabilidad entre cada una de éstas. Además de ello, se hizo una cuantificación de las muestras que se enviaron a secuenciar, después de purificarlas.

Luego de la inicialización automática del espectrofotómetro Genesys 10UV se seleccionó el tipo de análisis doble hebra (ADN/ARN). Se ingresó el factor de dilución 80 y se realizó la lectura de 395 μ l de agua como blanco. Luego se agregaron 5 μ l del ADN extraído y se homogenizó por inversión. Posteriormente se hicieron las lecturas de absorbancia a las longitudes de onda 260, 280 y 320. Para determinar la pureza se utilizaron las lecturas de absorbancia a 260, 280 y 320 y el cálculo se llevo a cabo con la razón $(A_{280}/A_{320}) / (A_{260}/A_{320})$. Para el cálculo de la concentración se empleó $(A_{280}/A_{320}) \times$ Factor de Dilución (80) \times 50 (Ávalos 2004). En el caso de todas las muestras en las que se obtuvo un resultado positivo para la detección de *Begomovirus* general, se hizo la cuantificación para cada una, a fin de poder alcanzar una concentración aproximada entre 75–125 ng/ μ l a partir de la concentración obtenida de cada extracción, y empleando la fórmula $V_1C_1 = V_2C_2$.

4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección del género *Begomovirus*. Se realizó una prueba de PCR a cada una de las muestras colectas. Tanto la mezcla de reacción como el programa del termociclador se hicieron con base al procedimiento propuesto por Wyatt y

Brown en 1996, el cuál se detalla en los cuadros No. 20 al 22 del apéndice C. Luego las muestras fueron almacenadas a 4°C hasta su análisis posterior.

5. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para identificar las especies de *Begomovirus*. Se seleccionaron todas las muestras positivas para *Begomovirus* general y se hicieron 4 PCR con cebadores específicos para identificar la especie de virus. Los virus específicos a determinar fueron de los *Begomovirus* más frecuentes en Guatemala según Nakhla *et al.* (*Pepper huasteco yellow vein virus*, *Pepper golden mosaic Begomovirus*, *Havana golden mosaic Begomovirus* y *Tomato severe leaf curl virus*). Posteriormente se corrieron otros 4 PCR con diferentes juegos de cebadores específicos, para aquellas muestras que eran positivas y no hubiera habido detección con los primeros 4 PCR, en este caso la detección correspondía a los *Begomovirus*, *Tomato golden mottle virus*, *Tomato mild mottle virus*, *Severe leaf yellow mosaic virus* y *Tomato leaf curl Sinaloa virus* (Nakhla *et al.* 2005). Las condiciones de reacción, así como el programa de PCR se basaron en el procedimiento descrito por Nakhla *et al.* y modificado por Ortiz 2007, el detalle se muestra en los cuadros No. 23 al 25 del apéndice C. Luego las muestras fueron almacenadas a 4°C hasta su análisis posterior. El cuadro No. 8 detalla el nombre de cada uno de los virus específicos trabajados, así como las siglas empleadas para su denominación científica. En la última columna del lado derecho de la tabla No. 8, se lista el nombre abreviado que se utilizará a lo largo de éste estudio, para nombrar a cada una de las especies de virus. Esto con la finalidad, de que al momento de la lectura sea más sencilla su asociación.

Cuadro No. 8
Denominación taxonómica de los virus específicos trabajados y sus respectivos nombres abreviados empleadas para su identificación a lo largo de éste trabajo

Virus específico	Denominación	
	Siglas	Nombre abreviado
<i>Pepper huasteco yellow vein virus</i>	PHYVVV	Huasteco
<i>Tomato severe leaf curl virus</i>	ToSLCV	Leaf
<i>Tomato golden mottle virus</i>	ToGMoV	Mottle
<i>Tomato mild mottle virus</i>	ToMiMoV	Mild
<i>Tomato mosaicHavana virus</i>	ToMHV	Havana
<i>Tomato yellow mottle virus</i>	ToYMoV	Yellow
<i>Tomato leaf curl Sinaloa virus</i>	ToLCSinV	Sinaloa
<i>Pepper golden mosaic virus</i>	PepGMV	Golden

6. Electroforesis en gel de agarosa de los productos de PCR. Se realizó mediante las modificaciones realizadas para electroforesis en gel de agarosa descrito en el cuadro. No. 26 del apéndice D.

D. Análisis estadístico

Para llevar a cabo el análisis de la diversidad de *Begomovirus* en los diferentes lugares de muestreo pueden emplearse varios índices de diversidad. En este caso se empleó en índice de Shanon Weiner tanto simple como estandarizado. Este índice permitió tener una medida de comparación de la diversidad del virus, tomando como recurso de éste a las malezas (hospedero alterno), y tomando como estado de recurso la localización del hospedero (para medir la diversidad según el departamento) y la el tipo de hospedero (para medir la diversidad según la familia demaleza). El cálculo se hizo mediante la fórmula que describe el índice de Shannon – Wiener, así como la estandarización de dicha fórmula que da como resultado la medida de uniformidad de Shannon – Wiener, en un rango comprendido entre 0 – 1, siendo el valor más grande sinónimo de mayor diversidad, mientras que el más pequeño implica lo contrario.

Se estudió además la amplitud de nicho, para lo cual se empleó en índice de Levins tanto el simple como el estandarizado. Este índice es un indicador del rango de diversidad de hospederos del virus. De nuevo, el valor más grande es sinónimo de mayor amplitud de nicho (es decir mayor número de hospederos), mientras que el más pequeño implica lo contrario

El traslape de los nichos se hizo con tres medidas estadísticas diferentes: el índice de McArthur y Levins, el Porcentaje de Traslape y el índice simplificado de Morisita, cuyas fórmulas se han descrito con antelación, tomando en cuenta que para el caso del índice de McArthur y Levins se usa la versión estandarizada que recibe el nombre de medida de Pianka para el traslape de nichos. Estos tres índices indican el porcentaje de coincidencia de hospederos para dos especies de virus diferentes. Los valores pueden visualizarse como porcentajes a partir de la proporciones obtenidas (multiplicando por 100 lo índices, y manteniendo el valor de porcentaje para el porcentaje de traslape). De esta forma un valor alto implica un alto grado de hospederos comunes, mientras que los bajos lo contrario.

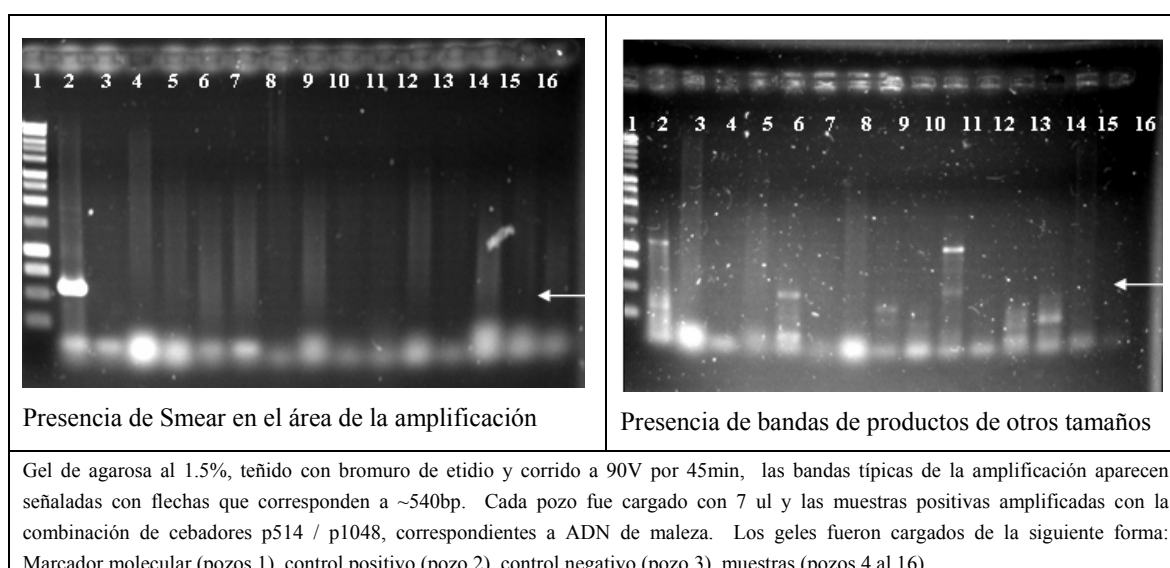
XVI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Extracción del ADN de las muestras trabajadas y de la reacción en cadena de la polimera (PCR) para la detección del género *Begomovirus*

El amplio rango de muestras de malezas trabajadas, procedentes de varias familias, resultó de particular importancia a lo largo del estudio debido a que representó un problema serio al momento de llevar a cabo el proceso de extracción y purificación. Muchas de las muestras contenían una gran cantidad de pigmentos y mucílagos, además de otros compuestos no conocidos, que en algunos casos no permitían realizar adecuadamente la extracción fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1), creando una emulsión en lugar de formar fases. En varios de los casos se necesitó más de una purificación con etanol, pero aún así se obtenían precipitados con tonalidades oscuras al momento de resuspender el pellet en agua.

En un inicio se pensó que era posible que este tipo de componentes en la muestras pudo interferir durante la amplificación de ADN, ya que la detección del género *Begomovirus* era poco clara al momento de llevar a cabo la migración en gel de agarosa. Se evidenciaban bandas únicas, pero de diferente tamaño al esperado, presencia de smear o bandas múltiples, tal como se muestra en el ejemplo a continuación.

Figura No. 4
Migración de los productos de PCR para la detección del género *Begomovirus*



En casos como los mostrados en las figuras anteriores, la prueba era repetida para las muestras dudosas para verificar que no existieran falsos negativos. Luego de varias pruebas en el proceso de extracción, se implementó un solo lavado con etanol, y se repitió la precipitación en isopronol, con lo que se logró obtener

un producto más puro, con menor cantidad de pigmentos, mucílagos y otros interferentes. La desventaja es que parte del ADN también se perdía en éste tipo de purificación, teniendo riesgo de que existieran falsos negativos debido a que la concentración de ADN era muy baja en los casos en el que el tejido vegetal era escaso.

Se intentó además emplear una concentración de ADN entre 25 y 125 ng/ul, para ello se hicieron pruebas con un pequeño grupo de muestras al azar (aproximadamente 20), que se cuantificaron y se ajustaron a esa concentración, sin embargo no fue funcional debido a los componentes colorimétricos y partículas resuspendidas, contribuían al error de las lecturas, al momento de cuantificar mediante espectrofotometría. Se demostró además que muestras con altas puridades presentaban bandas no definidas en algunos casos, y por el contrario muestras pigmentadas y con mucílagos sí, por lo que ambos componentes pudieron no ser la causa de la interferencia en el proceso de PCR. Por otro parte, este paso no resulta de gran utilidad cuando se debe procesar una gran cantidad de muestras.

Los resultados obtenidos para las muestras positivas, tanto para el género *Begomovirus* como para los virus específicos se listan en el cuadro No. 18 del apéndice A, en el que además se describen otras características de cada una de las muestras.

B. Porcentajes de Incidencia de *Begomovirus* spp.

Cuadro No. 9
Porcentajes de incidencia de *Begomovirus* general y específicos en los 14 departamentos de Guatemala muestreados

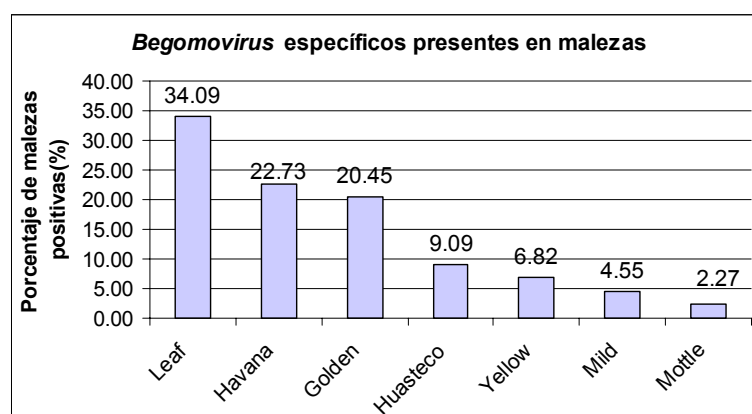
Virus ***	Porcentaje con respecto al total de muestras	Porcentaje con respecto a las muestras positivas
Género <i>Begomovirus</i>	5.06%	100.00%
Golden	0.95%	20.45%
Havana	1.05%	22.73%
Huasteco	0.42%	9.09%
Leaf	1.58%	34.09%
Mottle	0.11%	2.27%
Mild	0.21%	4.55%
Yellow	0.32%	6.82%
Sinaloa	0.00%	0.00%

***El nombre científico de los virus se muestra en el cuadro No. 8 de la sección de metodología

Tal como se muestra en el cuadro No 9, puede verse que el porcentaje de incidencia del *Begomovirus* general es de sólo el 5.06%. La literatura reporta una incidencia de aproximadamente el 12% de infección en malezas (empleando la técnica de PCR para la detección), por lo cual el título obtenido es inferior al

promedio. Sin embargo, esto podría deberse a que el porcentaje de virus varía según la época del año, y parte de las muestras recolectadas para este estudio se obtuvieron en meses de menor incidencia del virus (septiembre de 2007), según Ortiz 2007. Por otro lado, se trabajó con muestras liofilizadas, en las que la integridad del virus puede verse afectada al momento de realizar dicho proceso. Esto pudo evidenciarse al momento de hacer la segunda fase de colecta, en la cuál las muestras de tejido fresco que fueron positivas para *Begomovirus* general, presentaban mejor definición de las bandas que las liofilizadas.

Figura No. 5



Tanto la representación de la figura No. 5 como lo reportado por Nakhla *et al.* 2005, demuestran que las cuatro especies de virus con mayor incidencia en el área departamental muestreada está constituida por Golden, Havana, Huasteco y Leaf, siendo Leaf en este estudio el de mayor prevalencia. También se encontró Mottle, Mild y Yellow, pero en menor proporción; siendo este último poco estudiado en el país.

En este caso el 0% correspondiente a Sinaloa no indica la ausencia de esta especie, ya que se ha reportado con anterioridad en plantas del país (Nakhla 2005), pero sí sugiere la poca probabilidad de detectarlo al momento de muestrear malezas. Las razones por las que no se ha dado una mayor diseminación, podrían estar relacionadas al vector o la menor adaptabilidad que hasta el momento, esta especie de virus ha presentado con relación a sus hospederos primarios y secundarios. La causa puede deberse a la menor capacidad de transmisión (en términos de la infectividad del virus al vector, o del vector al hospedero), así como también a los factores ambientales de la región cultivada.

C. Distribución de *Begomovirus* spp. según su hospedero alternativo y localización geográfica.

Figura No. 6

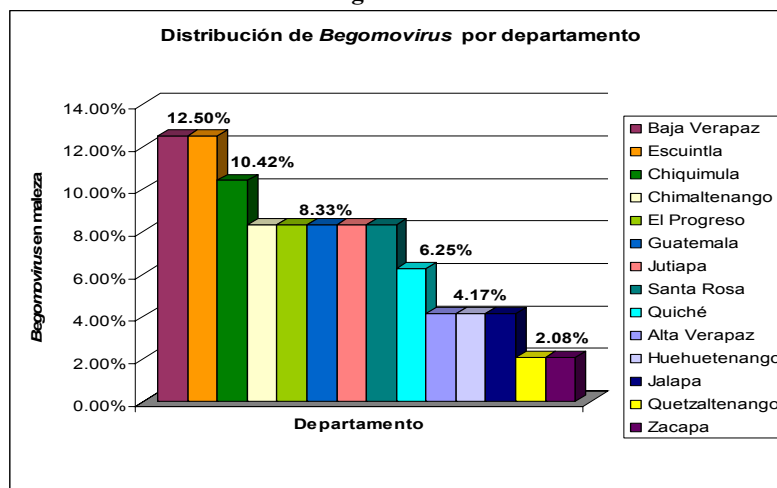
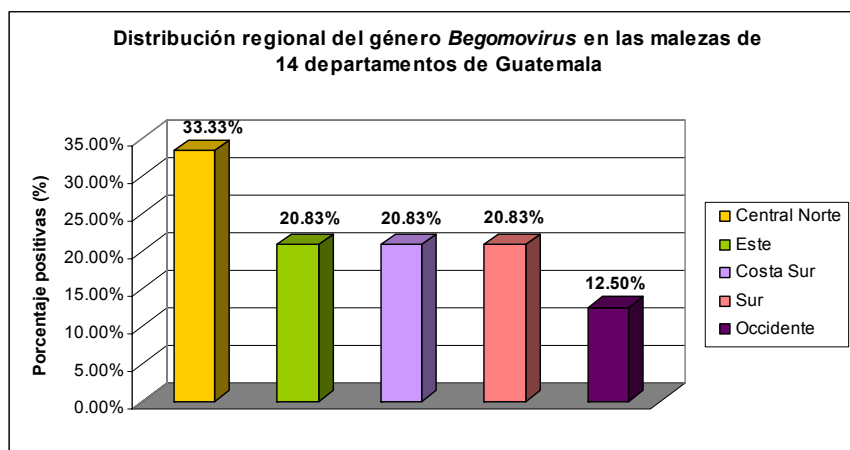


Figura No. 7



Mientras en la figura No. 6 sólo se observan los porcentajes de malezas infectadas en cada departamento, la figura No. 7 representa de mejor forma la distribución del virus en las diferentes regiones del país. Las regiones este, costa sur, y sur muestran una distribución equitativa, mientras la región occidental posee un menor porcentaje de incidencia del virus. Se ha demostrado que en Guatemala *B. tabaci* puede estar en alturas superiores a 1,000 m SNM (Carabali 2004), lo que implica que el virus también puede estar presente a estas alturas (tal como lo reflejan los resultados para el área occidental). Sin embargo, debe tomarse en cuenta que estos virus se encuentran con mayor frecuencia a alturas menores (como se observa en la figura anterior), por lo que este factor podría estar afectando la diseminación del virus en ésta zona. Sin embargo, el mayor problema puede radicar en las extensiones de áreas muestreadas durante el proyecto, ya que comprenden solamente unos de todos los cultivos de la región, que podrían no ser representativos de la

misma. Por ello, es necesario realizar un muestreo más grande en el mismo sector para corroborar los datos ya obtenidos.

Así, en la figura No. 7 se tiene un mayor porcentaje de viremia en la región central norte, al compararlo con las regiones que presentan un 20.83%. Es importante resaltar que la región costa sur sólo está comprendida por el departamento de Escuintla, por lo que este porcentaje es alto teniendo presente que los resultados de las muestras colectadas en ésta localidad son análogas a los encontrados en las otras áreas con mayor cantidad de departamentos.

Si se analizan los resultados obtenidos de acuerdo al área sembrada en cada región, es posible que los porcentajes varíen aún más, esto debido a que la viremia de las malezas será proporcional al área de cultivo sembrada. De esta forma, en segmentos más extensos de cultivos el virus puede diseminarse con mayor facilidad, mientras que en las áreas más pequeñas este factor no solamente restringe la infección a través del cultivo, y hacia las malezas; sino que también la dispersión de estas pequeñas siembras, juega un papel importante evitando el contagio a otras.

Por otra parte, el tiempo en que siembra cada agricultor es otro elemento influyente, ya que los cultivos sembrados al principio de la cosecha no presentarán tanto problema como los sembrados posteriormente, debido a que estos últimos tienen mayor probabilidad de contagio si se piensa en que el virus ha tenido tiempo para replicarse y propagarse.

El clima es otro factor ambiental que afecta grandemente en los cultivos, puesto que si la temperatura es apta tanto para el cultivo como para la reproducción del virus, principalmente en áreas tropicales y subtropicales como en Guatemala, ambos aumentarán en igual proporción, viéndose las plantaciones perjudicadas por la presencia de reservorios del virus (malezas aledañas).

D. Distribución de especies de Begomovirus por localización geográfica

En esta sección se muestran y discuten las gráficas representativas de la distribución geográfica de las especies de *Begomovirus* trabajadas: Golden, Havana, Huasteco, Leaf, Mild, Mottle, y Yellow. Sinaloa se omite en las gráficas debido a que ninguna de las muestras recolectas resultó positiva para este virus. Primero se presenta la forma en que se distribuye cada especie del virus en los 14 departamentos trabajados, y luego se hace un análisis a nivel regional: central-norte, este, costa sur, sur y occidente.

Figura No. 8

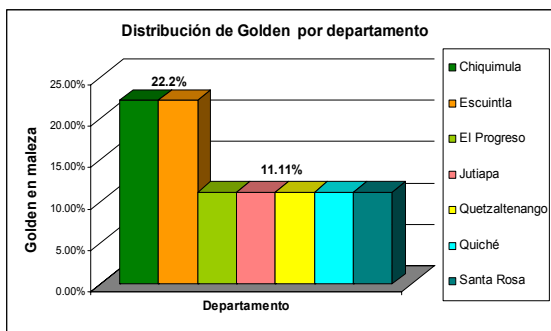


Figura No. 9

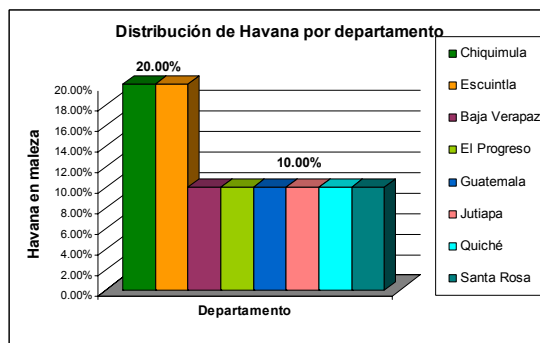


Figura No. 10

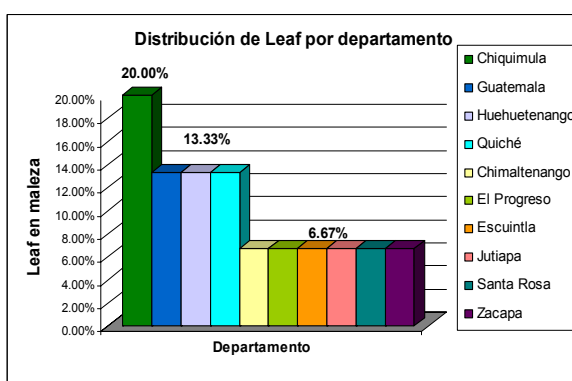


Figura No. 11

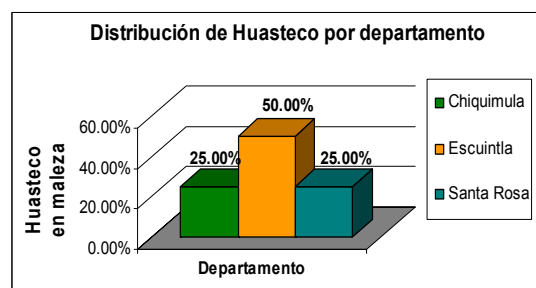


Figura No. 12

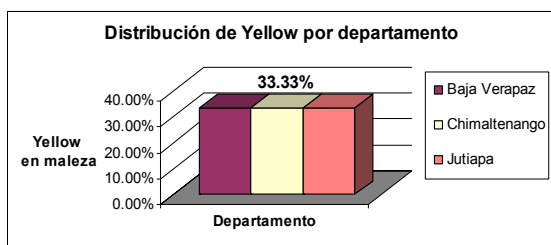


Figura No. 13

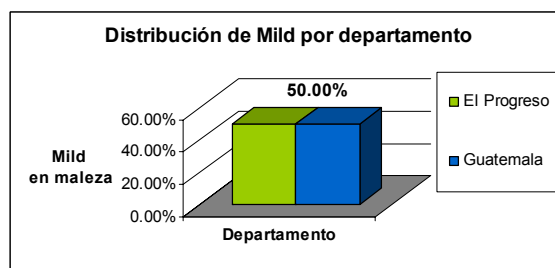
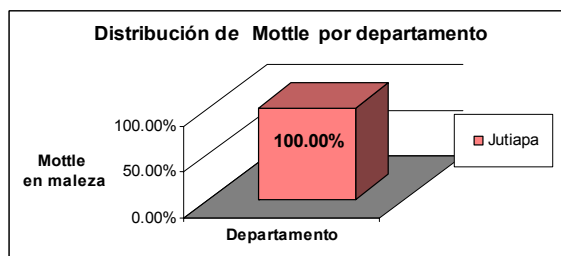


Figura No. 14



En cuanto a la distribución departamental de las especies de virus, Golden y Havana presentan un comportamiento similar, con una mayor incidencia en los departamentos de Escuintla y Chiquimula. Es posible que esto se deba a la presencia de infecciones mixtas en las malezas muestreadas (ver cuadro No. 27

del apéndice E). La razón por la cual pueden darse este tipo de asociaciones virales dentro de un mismo hospedero puede explicarse en mucho debido a la similitud de sus secuencias. En este caso, podría sugerirse que el parecido genómico de las especies de virus, está relacionado con la patogenicidad del virus, la capacidad infectiva del hospedero (común en este caso), así como con la adaptabilidad al medio ambiente del país; de ahí que varios de los resultados obtenidos sean similares para Golden, Havana y Leaf. Sin embargo, hace falta profundizar al respecto, debido a que Huasteco, también se encuentra sumamente relacionada con Havana, Golden y Leaf, pero los datos obtenidos para esta especie varían considerablemente con respecto a las otras. La razón de esto es porque la comparación genómica realizada solo se hizo en base al anillo A (sumamente conservado), por lo que estudios que involucren información correspondiente al anillo B (relacionado con mutaciones y movilidad del virus) podrán ser más enriquecedores.

Por otro lado Leaf está dividido en tres secciones, cuyo mayor porcentaje es nuevamente en el departamento de Chiquimula, una tendencia media en Huehuetenango, Quiché y Guatemala y una menor incidencia en los demás departamentos incluyendo Escuintla. Al comprender una mayor cantidad de departamentos puede inferirse que el virus tiene una mayor adaptación, lo que permite su prevalencia en diferentes zonas. Existe menor incidencia de los otros 4 virus en los departamentos estudiados, aunque la distribución de cada uno no es comparable entre sí, ya que es sumamente variable.

Figura No. 15

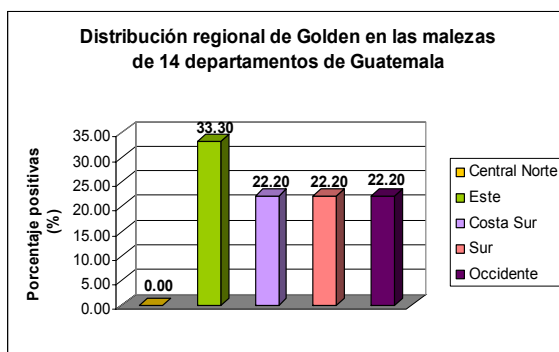


Figura No. 16

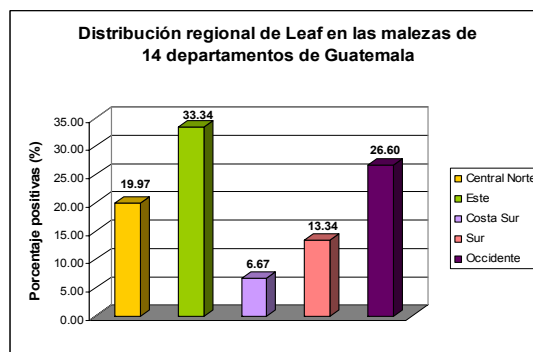


Figura No. 17

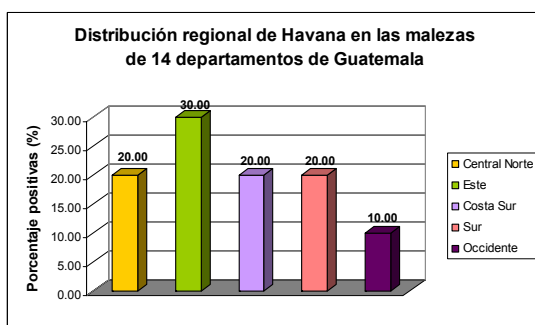


Figura No. 18

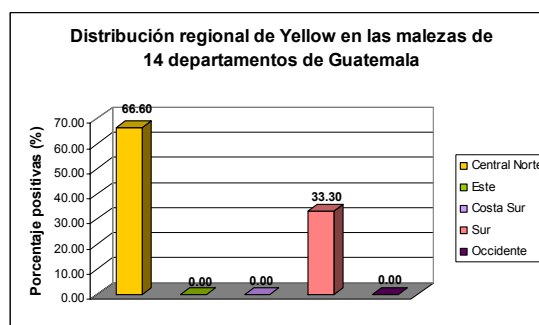


Figura No. 19

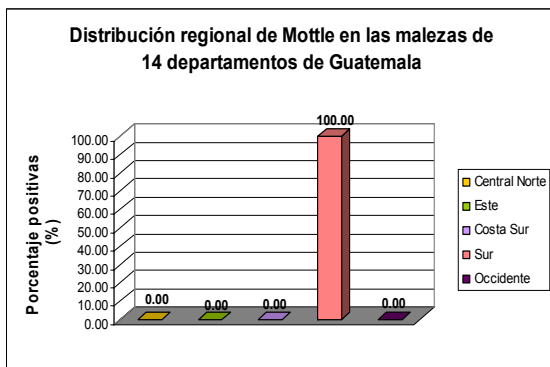


Figura No. 20

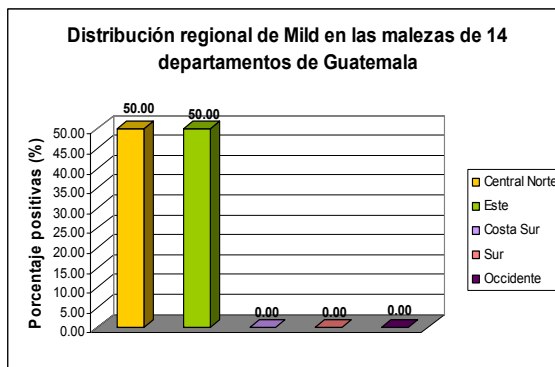
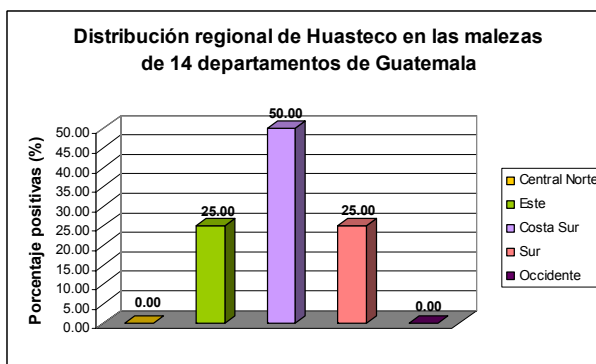


Figura No. 21



Las figuras No. 15 a la 21, muestran la distribución regional para cada una de las especies de *Begomovirus* específicos. Nuevamente la distribución regional de Golden, Havana y Leaf son muy similares mostrando mayor ocurrencia en la región Este del país, sin embargo el parecido entre Golden y Havana es mayor entre sí. La distribución regional de las otras especies es diversa.

El bloque de figuras a continuación representa la proporción de las especies de *Begomovirus* en cada región, en relación con el total de muestras trabajadas (es decir en relación a las 949 muestras colectadas).

Figura No. 22

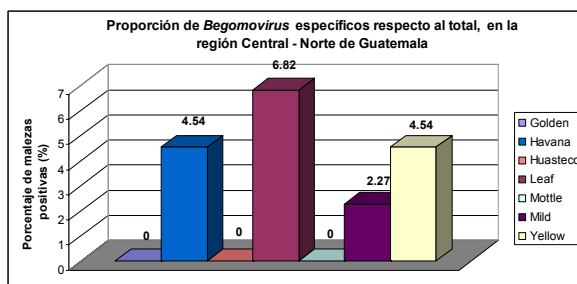


Figura No. 23

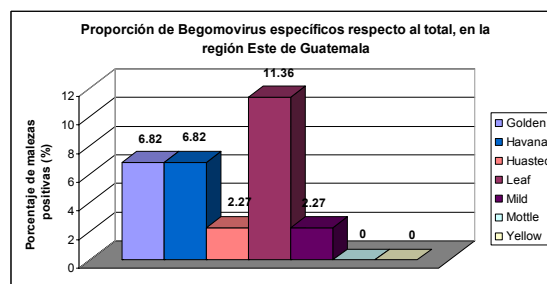


Figura No. 24

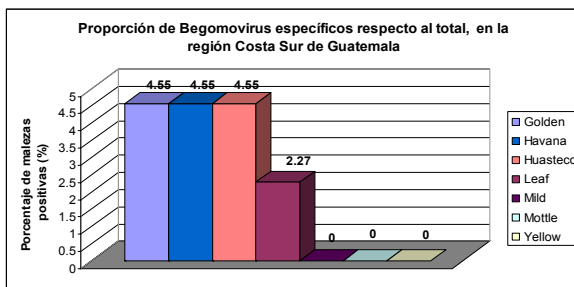


Figura No. 25

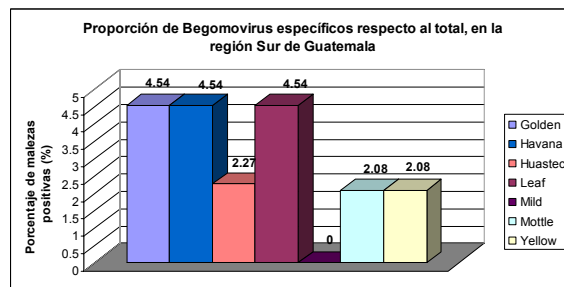
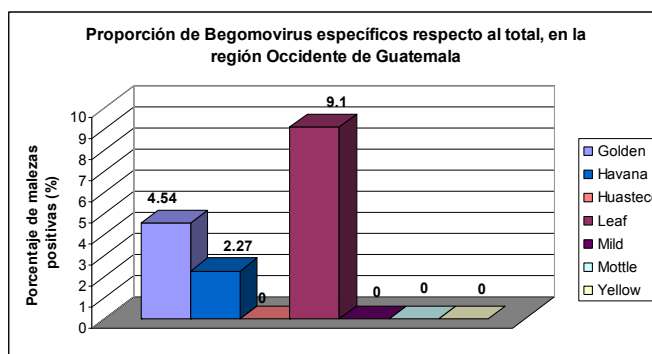


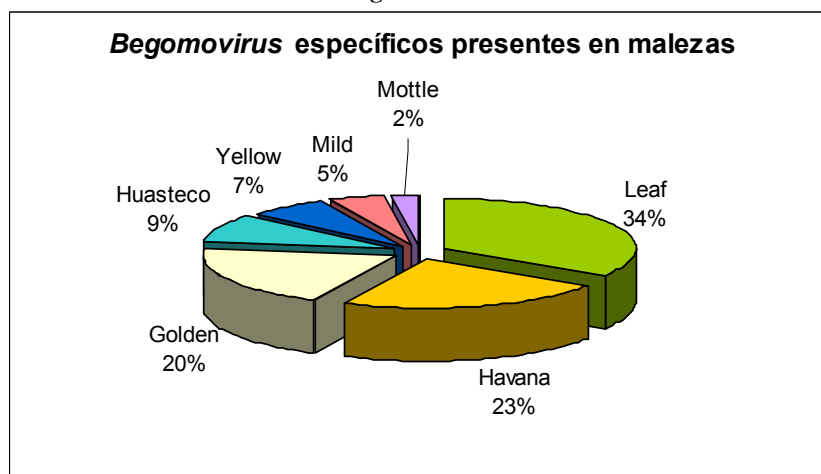
Figura No. 26



La serie de gráficas anteriores (figuras No. 22 a la 26) determinó que las diferentes especies de virus están divididas en todas las regiones, teniendo siempre mayor predominancia las especies Leaf, Golden y Havana. Es importante ver que no existe un patrón específico que determine la proliferación en una región determinada.

E. Distribución de *Begomovirus* spp. por familia

Figura No. 27



Varias de las plantas cultivadas en el país (hospederos primarios), tales como tomate, pepino, chile pimiento, melón, yuca, etc., (descritos por Mejía y Dardón 1994; Mejía 1999; Palmieri *et al.* 1999, 2000; Soltis *et al.* 1999; MAGA 2006) pertenecen a las familias con mayor asociación al virus (Soltis *et al.* 1999). Es importante hacer notar que las adaptaciones que el virus ha desarrollado para infectar a sus hospederos primarios, le permiten transmitirse con mayor facilidad a sus hospederos secundarios (malezas), lo que asegura su supervivencia, tal como lo plantean algunos autores (Frishmuth and Stanley 1993; Harrison *et al.* 1999; Padidam *et al.* 1999; Zhou *et al.* 1998^a, 1998b; Hou *et al.* 1996). De esta forma el ciclo del virus de planta al vector, se desvía y completa al mismo tiempo pasando a un hospedero alterno, brindando al mismo tiempo, especificidad de las especies de *Begomovirus* hacia ciertas malezas.

Las gráficas No. 28 a la 34 muestran la distribución de cada especie de virus según el hospedero secundario al que afectan (es decir la maleza). En varias de las gráficas aparecen las categorías de dudosa (malezas cuyo origen no fue posible clasificar por la botánica) y no determinada (malezas que aún no han sido clasificadas por la botánica ya sea por tiempo o porque no se cuenta con el material vegetal necesario).

Figura No. 28

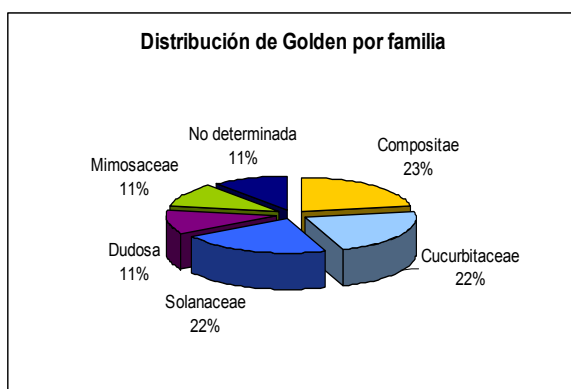


Figura No. 29

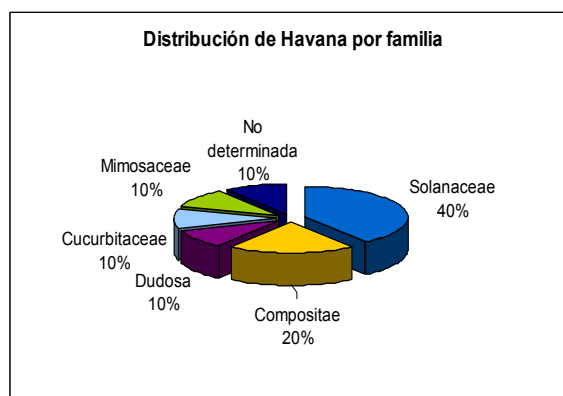


Figura No. 30

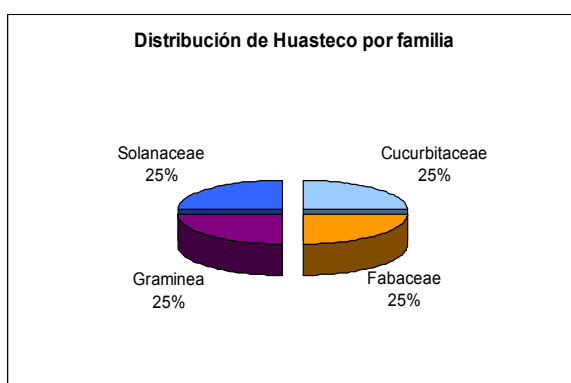


Figura No. 31

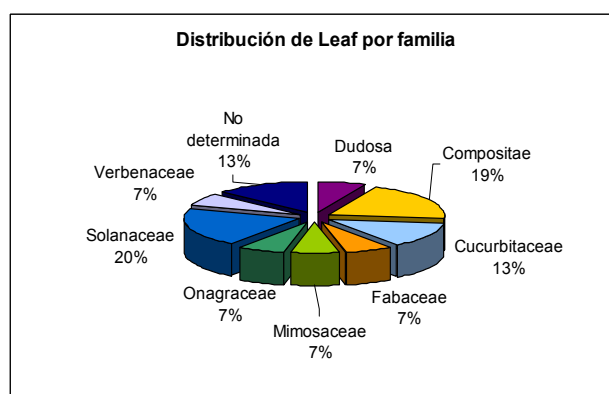


Figura No. 32

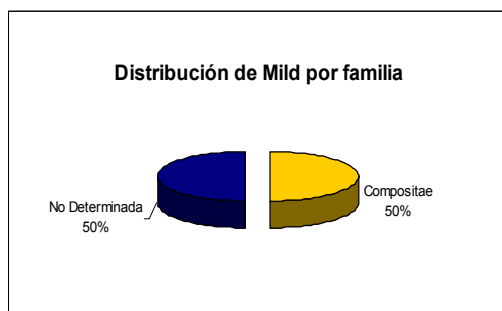
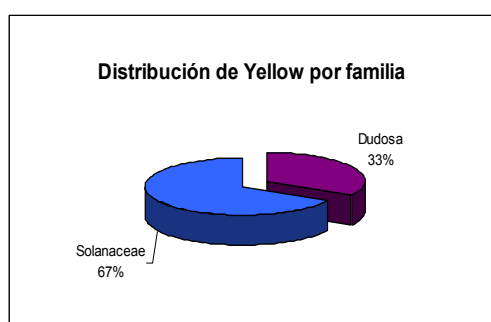


Figura No. 33



Figura No. 34



Mientras que Golden, Havana y Huasteco muestran una distribución similar en cuanto al número de hospederos, Leaf presenta el rango más alto de hospederos, con lo que puede explicarse su mayor distribución geográfica. Es probable que los otros virus específicos posean tipos de infecciones más especializadas debido a que comprenden hospederos más específicos, tal es el caso de Mild, Mottle y Yellow.

Además de ello, estos últimos abarcan familias dudosas y no determinadas, podrían tratarse de la misma familia que las especies prioritarias, o asociarse con las otras especies de virus, pero es necesario un estudio más profundo para hacer más inferencias sobre las asociaciones virus – maleza en estas especies.

Los resultados obtenidos a partir de estos datos podrían tener un alto margen de error debido a la poca cantidad de muestras positivas para cada virus específico, y el bajo título del virus en las malezas, lo que dificulta su detección y puede inducir cierto sesgo con facilidad. Sin embargo, este trabajo forma parte del estudio preliminar de los Begomovirus en las malezas, y por lo mismo es en gran parte informativo. Para poder reducir el margen de error es necesario particularizar casos con el afán de profundizar en el estudio de los mismos.

F. Análisis estadístico de la diversidad de las especies de *Begomovirus*

La sección presentada a continuación respalda a las gráficas mostradas con antelación, al mismo tiempo que permite profundizar en el estudio de la diversidad que presentan las especies de *Begomovirus* identificadas, y en su asociación a sus recursos, que en éste caso quedan definidos como los hospederos alternos. Así también, permite estudiar los estados del recurso (familia y localización del hospedero) y la forma en que éstos afectan al virus. En los cuadros No. 11 al 13 describen los resultados obtenidos al calcular diferentes índices de diversidad de los virus específicos con respecto a su estado de recurso.

Cuadro No. 10

Medida de Levins para la amplitud de nicho ecológico (B), así como su respectiva estandarización (Ba) en las 7 especies de *Begomovirus* con respecto a cada departamento en los que se muestrearon malezas

Virus específico	B	Ba
1. Golden	6.243	0.403
2. Havana	7.143	0.473
3. Huasteco	2.667	0.128
4. Leaf	8.350	0.565
5. Mottle	1.000	0.000
6. Mild	2.000	0.077
7. Yellow	3.006	0.154

Cuadro No. 11

Índice de diversidad de Shannon – Weiner (H'), así como su respectiva estandarización (J') en las 7 especies de *Begomovirus*, calculadas para logaritmo de base 10 (nits) y de base 2 (bits), con respecto a cada departamento en los que se muestrearon malezas

	H' (nits/individuo)	J'	H' (bits/individuo)	J'
1. Golden	1.888	0.716	2.724	0.716
2. Havana	2.025	0.767	2.922	0.767
3. Huasteco	1.040	0.394	1.500	0.394
4. Leaf	2.210	0.838	3.189	0.838
5. Mottle	0.000	0.000	0.000	0.000
6. Mild	0.693	0.263	1.000	0.263
7. Yellow	1.099	0.416	1.585	0.416

Cuadro No. 12

Medida de Levins para la amplitud de nicho ecológico (B), así como su respectiva estandarización (Ba) en las 7 especies de *Begomovirus* con respecto a cada familia de malezas positivas

	B	Ba
1. Golden	5.4	0.367
2. Havana	4.167	0.264
3. Huasteco	4.0	0.25
4. Leaf	7.258	0.522
5. Mottle	1.0	0.0

Continuación Cuadro No. 12

	B	Ba
6. Mild	2.0	0.083
7. Yellow	1.8	0.067

Cuadro No. 13

Índice de diversidad de Shannon – Weiner (H'), así como su respectiva estandarización (J') en las 7 especies de Begomovirus, calculadas para logaritmo de base 10 (nits) y de base 2 (bits), con respecto a cada familia de malezas positivas

	H' (nits/individuo)	J'	H' (bits/individuo)	J'
1. Golden	1.735	0.676	2.503	0.676
2. Havana	1.609	0.627	2.322	0.627
3. Huasteco	1.386	0.54	2.0	0.54
4. Leaf	2.084	0.812	3.006	0.812
5. Mottle	0.000	0.00	0.0	0.00
6. Mild	0.693	0.27	1.0	0.27
7. Yellow	0.637	0.248	0.918	0.248

Los cuadros anteriores demuestran que Leaf es la especie con mayor diversidad tanto en la localización geográfica del hospedero, como en las familias del mismo. De forma antagónica Mottle presenta la menor diversidad. Paralelamente, la amplitud de nicho para Leaf es una comprobación de su mayor capacidad infectiva en las malezas en comparación con las otras especies.

Desde el punto de vista de la plaga, el hecho que el virus presente un alto rango de hospederos le permite postergar sus genes, puesto que al momento que la mosca oviposita en diferentes plantas, éste tiene la capacidad de sobrevivir, no es el caso de aquellas especies con un rango más restringido. Por el contrario, desde el punto de vista del control de plagas, es importante conocer el grado de especificidad de la relación hospedero alternativo – virus, debido a que entre más restringido sea el rango con más facilidad se podrá erradicar el patógeno.

Cuadro No. 14

Comparación del porcentaje de traslape contra los índices de traslape de nichos de McArthur y Levins estandarizado (O_{jk}) y Morisita simplificado (CH), para las diferentes especies de Begomovirus, expresados como proporción de $(0 - 1)$ y como porcentaje

Especie 1	Especie 2	McArthur y Levins**		Porcentaje de traslape	Morisita simplificado	
		O_{jk}	Porcentaje		CH	Porcentaje
Golden	Havana	0.896	89.598	82.222	0.889	88.850
Golden	Huasteco	0.516	51.640	66.667	0.511	51.064
Golden	Leaf	0.927	92.748	77.778	0.917	91.743
Golden	Mottle	0.258			0.188	18.750
Golden	Mild	0.548	54.772	33.333	0.486	48.649
Golden	Yellow	0.577	57.735	33.333	0.500	50.000
Havana	Huasteco	0.510	51.031	55.000	0.510	51.020
Havana	Leaf	0.880	25.820	11.111	0.847	84.706

Continuación Cuadro No. 14

Especie 1	Especie 2	McArthur y Levins**		Porcentaje de traslape	Morisita simplificado	
		Ojk	Porcentaje		CH	Porcentaje
Havana	Mottle	0.204	20.412	10.000	0.161	16.129
Havana	Mild	0.433	43.301	30.000	0.405	40.541
Havana	Yellow	0.822	82.158	50.000	0.754	75.419
Huasteco	Leaf	0.539	53.882	60.000	0.516	51.576
Huasteco	Mottle	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Huasteco	Mild	0.000	0.000	50.000	0.000	0.000
Huasteco	Yellow	0.447	44.721	25.000	0.414	41.379
Leaf	Mottle	0.180	17.961	6.667	0.117	11.719
Leaf	Mild	0.635	63.500	33.333	0.523	52.265
Leaf	Yellow	0.562	56.225	26.667	0.449	44.872
Mottle	Mild	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Mottle	Yellow	0.447	44.721	26.667	0.429	42.857
Mild	Yellow	0.000	0.000	33.333	0.000	0.000

** Modificación de Pianka para el índice de McArthur y Levins

El cuadro No. 14 permite realizar una comparación de tres diferentes medidas de traslape de nichos (familias de maleza, según el estado de recurso empleado para la estadística), cada una con ventajas y desventajas diferentes. A pesar de esto, todos los valores son parecidos entre sí.

Es importante resaltar que el valor de 0 para el traslape de nichos no implica que la competencia interespecífica esté ausente, o que no existe un traslape total, ya que uno o varios hospederos de una especie de virus podrían estar contenidos dentro del conjunto total de hospederos de una segunda especie (es decir ser un subconjunto del hospedero de esa especie), tal como lo describe Krebs en el año 1999.

De igual forma la existencia de un traslape de nicho no implica que exista competición entre las especies por los recursos compartidos, por lo que el conocimiento de estos valores (ver cuadro No. 14) sirve en muchos casos como una medida descriptiva de la organización de la población estudiada. El cuadro No. 14 evidencia las infecciones múltiples en los diversos hospederos, siendo Leaf el que mayor traslape presenta en relación con las demás especies, y Mottle el de menor.

Cuadro No. 15
Índice de traslape de nichos de Morisita simplificado (CH), para las diferentes especies de Begomovirus, expresados como porcentaje en una matriz triangular

		Especies						
		Golden	Havana	Huasteco	Leaf	Mottle	Mild	Yellow
Especies	Golden	100.00	88.850	51.064	91.743	18.750	48.649	50.000
	Havana	88.850	100.00	51.020	84.706	16.129	40.541	75.419
	Huasteco	51.064	51.020	100.00	51.576	0.000	0.000	41.379
	Leaf	91.743	84.706	51.576	100.00	11.719	52.265	44.872
	Mild	18.750	16.129	0.000	11.719	100.00	0.000	42.857
	Mottle	48.649	40.541	0.000	52.265	0.000	100.00	0.000
	Yellow	50.000	75.419	41.379	44.872	42.857	0.000	100.00

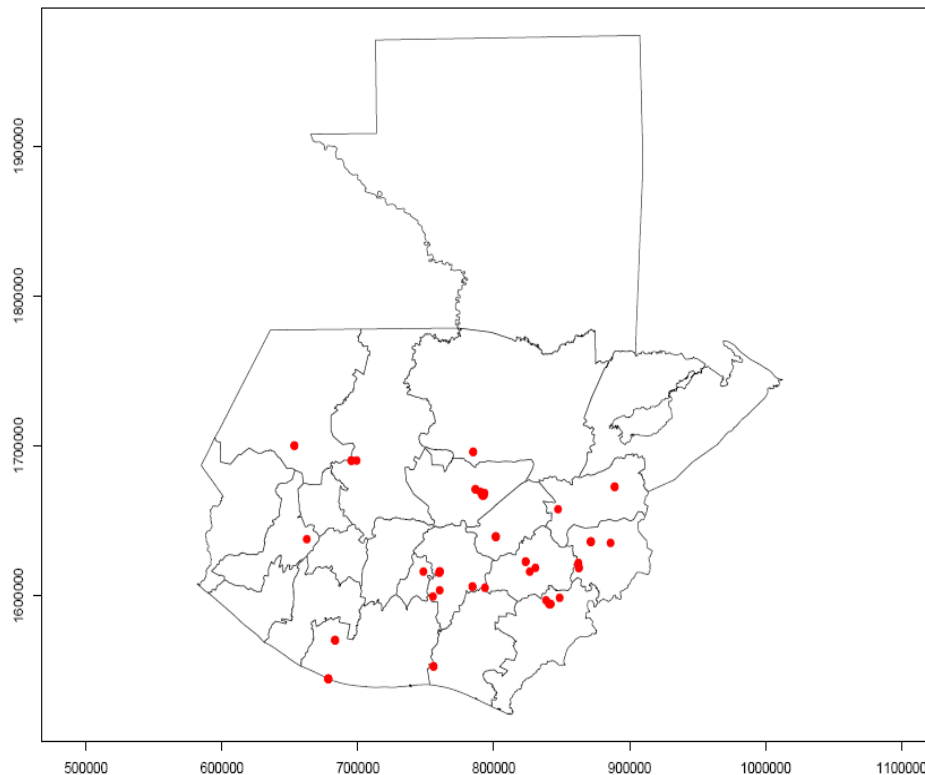
Se piensa que la capacidad infectiva podría estar asociada a la presencia de varios virus, ya que durante el proceso de detección de virus específicos, las bandas de mayor intensidad pertenecían a infecciones mixtas.

Por último, al conocer las asociaciones entre las distintas especies de virus se puede obtener el grado de sinergismo o antagonismo u otro tipo de relación entre las mismas. De esta forma, puede verificarse si la presencia de especies múltiples facilita la infección de los hospederos, así como si esta relación dificulta o favorece la detección de la especie del virus, tomando en cuenta la influencia que las especies predominantes ejercen sobre las menos frecuentes o viceversa.

G. Mapa

El mapa a continuación presenta de forma gráfica los puntos de colecta en los que se encontraron malezas positivas para la presencia de *Begomovirus*. Los puntos ploteados se obtuvieron de las coordenadas de las fincas muestreadas.

Figura No. 35
Representación de la distribución geográfica de *Begomovirus* spp. presentes en las malezas de los 14 departamentos de Guatemala



****Las coordenadas del mapa se encuentran en UTM**

XVII. CONCLUSIONES

- A. Debido a la variabilidad de las muestras trabajadas, la estandarización del PCR para la amplificación del gen de la proteína de cápside viral sólo comprendió la visualización de la banda de ~1,100bp, aún cuando existieran otros productos secundarios. Por lo tanto el método resulta útil para llevar a cabo la detección, pero no así para otros fines tales como la secuenciación.
- B. El porcentaje de incidencia del *Begomovirus* general fue de 5.06% en comparación con un 12% reportado en la literatura.
- C. Las cuatro especies de virus con mayor incidencia en el área departamental muestreada está constituida por Golden, Havana, Huasteco y Leaf, siendo Leaf en este estudio el de mayor prevalencia.
- D. La incidencia de virus específicos en los 14 departamentos muestreados fue de 1.58% para Leaf, 1.05% para Havana, 0.95% para Golden, 0.42% en Huasteco, 0.32% para Yellow, 0.21% para Mild, 0.11% para Mottle y 0.0% para Sinaloa.
- E. El 0% correspondiente a Sinaloa no indica la ausencia de esta especie, ya que se ha reportado con anterioridad en plantas del país, pero sí da una idea de la poca probabilidad de ser detectado al momento de muestrear malezas.
- F. Las regiones este, costa sur, y sur muestran una distribución equitativa de *Begomovirus*, mientras la región occidental posee un menor porcentaje de incidencia del virus. El mayor porcentaje de viremia se encuentra en la región central norte.
- G. En relación a la distribución de las especies de *Begomovirus* por localización geográfica, tanto Golden como Havana presentan un comportamiento similar, con una mayor incidencia en los departamentos de Escuintla y Chiquimula. Por otro lado Leaf está dividido en tres secciones, cuyo mayor porcentaje es nuevamente en el departamento de Chiquimula, una tendencia media en Huehuetenango, Quiché y Guatemala y una menor incidencia en los demás departamentos. Existe menor incidencia los otros 4 virus (Huasteco, Mild, Mottle y Yellow), aunque la distribución de cada uno es suficientemente diferente entre sí.
- H. La distribución regional de Golden, Havana y Leaf son muy similares mostrando mayor ocurrencia en la región Este del país, sin embargo el parecido entre Golden y Havana es mayor. La distribución regional de las otras especies es diversa. Se observó además, que las diferentes especies de virus están divididas en todas las regiones, sin que exista un patrón específico que determine la proporción, pero teniendo siempre mayor predominancia las especies Leaf, Golden y Havana.

- I. Mientras que Golden, Havana y Huasteco muestran una distribución similar en las familias de maleza (en cuanto a número), Leaf presenta el más alto rango de hospederos. Es probable que los otros virus específicos posean tipos de infecciones más especializadas, debido a que comprenden hospederos más específicos, tal es el caso de Mild, Mottle y Yellow.
- J. El amplio rango de hospedero de Leaf implica una mayor diversidad de la especie de virus, con lo que puede explicarse su mayor distribución geográfica.
- K. La poca cantidad de muestras positivas para cada virus específico, y el bajo título del virus en las malezas, dificultó su detección y puede inducir cierto sesgo y error a los resultados.
- L. El análisis estadístico de la diversidad de las especies de *Begomovirus*, demostró que Leaf es la especie con mayor diversidad tanto en la localización geográfica del hospedero ($Ba = 0.565$ y $J' = 0.716$), como en las familias del mismo ($Ba = 0.522$ y $J' = 0.812$). De forma antagónica Mottle presenta la menor diversidad con un Ba y $J' = 0.000$ para la distribución departamental, y un Ba y $J' = 0.000$ para la distribución de hospederos. La amplitud de nicho para Leaf (Ba), comprueba una vez más que posee una mayor capacidad infectiva en las malezas en comparación con las otras especies. Las otras especies presentaron valores entre éste rango.
- M. La obtención tanto del porcentaje de traslape como de los índices de traslape de nichos, evidenció la presencia de infecciones múltiples en una misma maleza, siendo Leaf el que mayor traslape presenta en relación con las demás especies, y Mottle el de menor. La capacidad infectiva podría estar asociada a la presencia de varios virus, ya que las bandas de mayor intensidad pertenecían a infecciones mixtas.
- N. La distribución geográfica de *Begomovirus* spp. presentes en las malezas de los diferentes puntos de colecta, de los 14 departamentos de Guatemala, no presentaron una tendencia definida.

XVIII. RECOMENDACIONES

XIX.

- A. Llevar a cabo estudios posteriores que abarquen la colecta de muestras de malezas pertenecientes a las familias identificadas como hospederos alternos, hasta el momento, con el fin de identificar las especies o géneros que contribuyen a la prevalencia y diseminación de los *Begomovirus* en el país.
- B. Al restringir el rango de malezas en las que el virus está presente, se puede llevar a cabo la estandarización de los procesos tales como extracción, purificación y mezclas de PCR, con el fin de evitar los falsos positivos y facilitar la detección, que hasta ahora presenta grandes dificultades al momento de interpretar geles para las muestras cuyo título es bajo.
- C. Tomar en cuenta que la extracción del ADN para la detección de los *Begomovirus* debe hacerse cercana a la fecha de colecta y de preferencia con muestras frescas, ya que la labilidad del virus se ve afectada por el proceso de liofilización y de descomposición de la muestra.
- D. Llevar a cabo más muestreos que comprendan menos departamentos, pero con mayor distribución de los puntos de colecta dentro de los mismos, a fin de que los resultados obtenidos puedan ser más factibles y representativos del área estudiada.
- E. De ser posible, trabajar las pruebas estadísticas con un mayor número de positivos de cada especie, ya que de ésta forma el error se vería disminuido notoriamente, y los resultados obtenidos podrían ser más confiables.
- F. Emplear software de estadística más complejos que permitan hacer una comparación del traslapo de hospederos, comparando todas las especies al mismo tiempo, ya que brindaría mayor información.
- G. Estudiar las asociaciones entre las especies de virus y su importancia para el estudio y combate de los *Begomovirus* en el país. Puede realizarse la secuenciación de muestras tanto con infecciones mixtas como sencillas, ya que de esta forma podrá saberse si la secuencia del virus se ve afectada bajo estas condiciones.
- H. Así mismo, capacitar a los agricultores sobre las formas de controlar la diseminación del virus, mediante la eliminación de estos focos de infección (malezas), en las cercanías a los cultivos, de forma paralela a los otros medios de control usados.
- I. Llevar a cabo la detección de las especies de *Begomovirus* específicos para el porcentaje de muestras positivas no determinadas, a fin de poder elaborar mapas de distribución por cada especie, y a partir de las coordenadas generar mapas predictivos para cada una de las especies en el país.

- J. Adquirir controles positivos para los *Begomovirus* específicos menos frecuentes (Sinaloa, Yellow, Mild y Motte), a fin de conocer si la metodología empleada es la adecuada, al mismo tiempo que se permitiría conocer si en efecto existe amplificación con las condiciones de reacción utilizadas (mezcla de PCR y programa del termociclador).

XX. LITERATURA CITADA

- a. Antoniw J. y M. Adams. 2007. *Description of plant viruses*. Disponible en <http://www.dpvweb.net/index.php>.
- b. Arias K. 2003. *Tomate: situación nacional e internacional, mercado nacional*. Subgerencia de desarrollo agropecuario, Dirección de Mercadeo y agroindustria. Año 1 informe 1.
- c. Bejarano, E.R. y C.P. Lichtenstein. 1994. *Expresión of TGMV antisense RNA in transgenic tobacco inhibits replication of BCTV but not ACMV Geminiviruses*. *Plant Molecular Biology* 24:241-248.
- d. Bisaro, D. M.. 1994. *Recombination in geminiviruses: mechanisms for maintaining genome size and generating genomic diversity*. In: J Paszkowski (ed) *Homologous Recombination and Gene Silencing in Plants*, pp 39-60. Kluwer, Dordrecht, pp385.
- e. Bisaro, D. M. 1996. *Geminivirus DNA replication*. Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. Pages 833-854 in: *DNA Replication in Eukaryotic Cells*. M. DePamphilis, ed. Cold Spring.
- f. Briddon, R.W., M.S. Pinner, J. Stanley y P.G. Markham. 1990. *Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity*. *Virology* 177:85-94.
- g. Brown, J.K. 2001. *The Molecular Epidemiology of Begomovirus sp.*. Chapter 13 in: *Trends in Plant Virology* (J. A. Khan and J. Dykstra), The Haworth Press, Inc., NY (*in press*).
- h. Brown, J.K., M. Palmieri, M.M. Doyle, A.M. Idris y R.D. Martyn. 2000. *Diversity and distribution of begomoviruses from vegetable and weed hosts in Guatemala and Honduras by comparative analyses of viral coat protein and common region nucleotide sequences*. 9na. conferencia latinoamericana y del caribe, sobre la mosca Blanca y Geminivirus. Panama. November 21-24, 2000 (abstr.).
- i. Brown, J.K, A. M. Idris, D. Rogan, M. H. Hussein, and M. Palmieri. 2001. *Melon Chlorotic Leaf Curl Virus, a New Whitefly Transmitted Geminivirus in Guatemala*. *Plant Disease*.
- j. Carabali A. 2004. *Potencial de resistencia de diferentes genotipos de yuca Manihot esculenta Crantz al "biotipo B" de mosca blanca Bemisia tabaci (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae)*. Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Cali, Colombia. p. 99.
- k. De La Torre-Almaráz, et. al. 2002. *Caracterización de un geminivirus en tomate de cáscara (Physalis ixocarpa B.) en la región centro de México*. *Agrociencia*, 36: 471-481. 2002.
- l. Faria, J. C., and Maxwell, D. P.. 1999. *Variability in geminivirus isolates associated with Phaseolus spp. in Brazil*. *Phytopathology* 89:262-268.
- m. Fauquet C. y Stanley J. 2003. *Geminivirus classification and nomenclature: progress and problems*. *Association of Applied Biologists*, 142:165-189.

- n. Federación de Asociaciones Agrícolas de Guatemala (FASAGUA). 2007. *Programa de monitoreo de mosca blanca*. Disponible en <http://www.fasagua.com/default.php?lng=&showpage=36>
- o. Frischmuth, T., S. Roberts, A. Von Arnim y J. Stanley. 1993. *Specificity of bipartite geminivirus movement proteins*. *Virology* 196:666-673.
- p. Hanley-Bowdoin L., S.B. Settlage., B.M. Orozco, S. Nagar y D. Robertson. 1999. *Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation*. *Crit. Rev. in Plant Sci.* 18: 71-106.
- q. Harrison B.D. y D.J. Robinson. 1999. *Natural genomic and antigenic variation in whitefly-transmitted geminiviruses (Begomoviruses)*. *Ann. Rev. Phytopathology* 37: 369-398.
- r. Hou Y.M. y R.L. Gilbertson. 1996. *Increased pathogenicity in a pseudorecombinant bipartite geminivirus correlates with intermolecular recombination*. *J Virol* 70:5430-5436.
- s. ICTVdB Management. 2006. The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>
- t. Idris, A.M. y J. K. Brown. 1998. *Sinaloa tomato leaf curl geminivirus: biological and molecular evidence for a new subgroup III virus*. *Phytopathology* 88: 648-657.
- u. Idris, A.M, J. Bird, D.M. Rogan, y J.K. Brown. 2002. *First association of Rhyncosia mosaic virus- Puerto Rico (RhMV-PR) with symptomatic Rhyncosia minima and Cajanus cajan in Puerto Rico*. *Plant Dis.* 86:XX.
- v. Jeske, H. y G. Werz. 1980. *Ultrastructural and biochemical investigations on the whitefly transmitted Abutilon Mosaic Virus (AbMV)*. *Phytopathology* v. 97 (1):43-55.
- w. Kheyr-pour, A., M. Bendahmane, V. Matzeit, G.P. Accotto y S. Crespi. 1991. *Tomato yellow leaf curl virus from Sardinia is a whitefly-transmitted monopartite geminivirus*. *Nucleic Acids Res.* 19:6763-6769.
- x. Krebs, Charles J. 1999. *Ecological Methodology*. Addison-Welsey Educational Publishers, Inc., Estados Unidos.
- y. Lazarowitz, S.G.. 1991. *Molecular characterization of two bipartite geminiviruses causing squash leaf curl disease: role of viral replication and movement functions determining host range*. *Virology* 180: 70-80.
- z. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación: MAGA Guatemala, Centro America). 2006. *Tomate y chile guatemalteco*. Disponible en http://www.maga.gob.gt/maga_portal/index.php?option=com_content&task=view&id=185
- aa. Martínez, Y., M. Quiñones, D. Fonseca e I. Miranda. 2003. *Prospección nacional de begomovirus presentes en el cultivo de tomate en cuba*. *Protección Vegetal*, 18:168-175.
- bb. Mayo, M. A. y C.R. Pringue. 1998. *Virus Taxonomy -1997*. *J. Gen. Virol.* 79:649-657.

- cc. Mejía, L. 1999. *Evaluación de genotipos de tomate (Lycopersicon esculentum Mill) para resistencia a virus géminos-transmitidos por mosca blanca y su detección por PCR.. Proyecto FONACYT No.28, Informe Final. Guatemala. p. 5.*
- dd. Mejía, L. y D. Dardón. 1994. *Biología y Manejo del complejo de Mosca blanca y virosis.* Memorias III taller Centroamericano y del Caribe sobre mosca blanca. Antigua Guatemala. P 109.
- ee. Méndez, J., I Torres, C. Fauquet y F Rivera. 2003. *Interactions between Geminiviruses in a naturally occurring mixture: Pepper huasteco virus and Pepper golden mosaic virus.* Phytophalogy, 93:270-277.
- ff. Nakhla, M., A. Sorensen, L. Mejía, P. Ramírez, J. Karkashian y D. Maxwell. 2005. *Molecular Characterization of Tomato-Infecting Begomoviruses in Central America and Development of DNA-Based Detection Methods.* Acta Hort. 695:277-288.
- gg. Ortiz, L. 2007. *Monitoreo de la incidencia de 4 especies de Begomovirus (Geminiviridae) en mosca blanca (Bemisia tabaci) recolectadas en 5 valles tomateros de Guatemala, como parte de un programa de manejo integrado de tomate.* Tesis de Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala. 95 pags.
- hh. Padidam M., S. Sawyer y C.M. Fauquet. 1999. *Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination.* Virology 265: 218-225.
- ii. Palmieri, M, J.K. Brown, M.E.Méndez, M. Orozco, L. Pineda, y L. López. 1999. *Marcadores moleculares para la identificación y monitoreo de la distribución de geminivirus y biotipos de Bemisia tabaci en plantaciones del sur y del Valle del Motagua, en Guatemala.* Informe CONCYT del proyecto No. 21. Guatemala.
- jj. Palmieri, M., J.K. Brown, L. Pineda, M. Orozco, M.E. Méndez, y L. López. 2000. *Estudio sobre diversidad de mosca blanca y su relación con geminivirus en la región sur y oriental de Guatemala.* Proceedings in The Ninth Latin American and Caribbean Conference on Whiteflies and Geminiviruses. Panama City, Panama, November 21-24, 2000 (abstr.).
- kk. Palmieri, M., R. Gilbertson, A. Ávalos, J. Melgar. 2005. *Monitoreo de la infección por diferentes begomovirus de B. tabaco, en campos de tomate (Lycopersicon esculentum), como criterio de alerta para establecer períodos libres de hospederos de begomovirus o períodos adecuados para la siembra de tomate en diferentes regiones del país.* Propuesta de proyecto AGROCYT. Sin publicar.
- ll. Poltson, J. y P. Anderson. 1997. *The emergence of whitefly-Transmitted Geminiviruses in tomatoe in the Western Hemisphere.* Plant disease, 81: 1358-1368.
- mm. Ramírez y Maxwell 1994. *Diversidad de los geminivirus transmitidos por moscas blancas.* Memorias III taller Centroamericano y del Caribe sobre mosca blanca. Antigua Guatemala. P 105.
- nn. Rivera R. y R. Ruiz. 1997. *Los Geminivirus: patógenos de Plantas como Modelos.* Instituto Politécnico Nacional México, D. F. p 311-324.
- oo. Rybicki, E.P.. 1994. *A phylogenetic and evolutionary justification for three genera of Geminiviridae.* Arch. Virol 139: 49-77.

- pp. Rosell, R., I. Torres-Jerez y J. Brown. 1999. *Tracing the Geminivirus-Whitefly transmission pathway by polymerase chain reaction in whitefly extracts, saliva, hemolymph, and honeydew*. Virology, 83:239-246.
- qq. Salguero, R.. 1994. *Biología y Manejo del complejo de Mosca blanca y virosis*. Memorias III taller Centroamericano y del Caribe sobre mosca blanca. Antigua Guatemala. P 16.
- rr. Solares, E. 2007. *Presencia del TYLCV (Tomato yellow leaf curl virus: Geminiviridae) en plantaciones de tomate (Lycopersicon esculentum L.) en Salamá, Sanarate y Asunción Mita*. Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala, Guatemala.
- ss. Soltis, P. S., D. E. Soltis, y M. W. Chase. 1999. *Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology*. Nature 402: 402-404
- tt. Vega, J., R. Rivera. 2001. *Los virus: cómplices para descifrar Procesos moleculares en las plantas*. Avance y Perspectiva, 20:349-355.
- uu. Wyatt S. y J. Brown. 1996. *Detection of subgroup III Geminivirus isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction*. Phytopathology, 86:1288-1293.
- vv. Zhou X., Y. Liu, L. Calvert, C. Munoz, G.W. Otim-Nape, D. Robinson y B.D. Harrison. 1997. *Evidence that DNA-A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by interspecific recombination*. J of Gen Virology 78:2101-2111.
- ww. Zhou X., Y. Liu, L. D. Robinson y B.D. Harrison. 1998a. *Four DNA-A variants among Pakistani isolates of cotton leaf curl virus and their affinities to DNA-A of geminivirus isolates from okra*. J of Gen Virology 79:915-923.
- xx. Zhou X, D. Robinson y B.D. Harrison. 1998b. *Types of variation in DNA-A among isolates of East African cassava mosaic virus from Kenya, Malawi and Tanzania*. J of Gen Virology 79:2835-2840.

XXI. APÉNDICES
XXII.

A. Apéndice A : Información sobre las muestras recolectadas y la localización de las giras de campo

Figura No. 36

Representación de los departamentos del país en los que se colectaron las muestras de malezas



Cuadro No. 16
Distribución de los 14 departamentos estudiados dentro de 5 regiones del país clasificadas con base a su localización

Región	Departamento
Central Norte	Alta Verapaz
	Baja Verapaz
	Chimaltenango
	Guatemala
Este	Chiquimula
	El Progreso
	Zacapa
Costa Sur	Escuintla
Sur	Jalapa
	Jutiapa
	Santa Rosa
Occidente	Huehuetenango
	Quetzaltenango
	Quiché

Cuadro No. 17
Clave utilizada para abreviar la sintomatología de las malezas

Abreviación	Descripción
1	Clorosis
2	Amarillamiento
3	Mosaico leve
4	Mosaico severo
5	Moteado
6	Puntos cloróticos
7	Puntos amarillos
8	Puntos necróticos
9	Manchas amarillas
10	Manchas necróticas
11	Bordes cloróticos
12	Bordes amarillos
13	Bordes necróticos
14	Manchas amarillas con centro necrótico
15	Enaciones

Continuación Cuadro No. 17

Abreviación	Descripción
16	Acolochamiento
17	Enrollamiento hacia arriba
18	Enrollamiento hacia abajo
19	Venas amarillas
20	Venas deformes
21	Venas distorsionadas
22	Rayado amarillo
23	Necrosis generalizada
24	Bordes café-morado
25	Mosaico café-morado
26	Hojas moradas
27	Manchas moradas
28	Manchas cloróticas
29	Manchas blancas
30	Daño por insecto
31	Rayado blanco
32	Moteado blanco con centro necrótico
33	Venas moradas
34	Puntos morados
36	Quemadura
38	Bacteria
39	Insectos (áfidos)
41	Manchas corintas
42	decoloración
43	envés morado
44	huevecillos
45	talo fusionado
NIN	Presencia de ninfas
SSA	Sin síntomas aparentes
MB	Presencia de mosca blanca

Cuadro No. 18 Descripción general de las muestras colectadas.

No.	Finca	Depto.	SINTOMATOLOGÍA					Herboriz	Familia	Género	Especie	Begomovirus	Golden	Havana	Huasteco	Leaf	G Mottle	Mild	Yellow	Sinaloa	No identificado	Sin Especificos	Anillo (AV)	Nombre común	Observaciones
			2	15																					
1	A	Zacapa	2	15			1	Fabaceae			0													Muestreo alrededor del cultivo	
2	A	Zacapa	9				1	Convolvulaceae			0													Muestreo alrededor del cultivo	
3	A	Zacapa	3				1	Fabaceae ?			0													Muestreo alrededor del cultivo	
4	A	Zacapa	SSA				1	Mimosaceae			0													Muestreo alrededor del cultivo	
5	A	Zacapa	10				1	Sterculiaceae	Waltheria ?		0													Muestreo alrededor del cultivo	
6	A	Zacapa	4				1	Fabaceae			0													Muestreo alrededor del cultivo	
7	A	Zacapa	SSA				1	Sterculiaceae	Waltheria ?		0													Muestreo alrededor del cultivo	
8	A	Zacapa	2				1	Sterculiaceae	Waltheria ?		0													Muestreo alrededor del cultivo	
9	A	Zacapa	1	15			1	Fabaceae			0													Muestreo alrededor del cultivo	
10	A	Zacapa	5				1	Malvaceae			0													Muestreo alrededor del cultivo	
11	A	Zacapa	1				1	Sterculiaceae	Waltheria ?		0													Muestreo alrededor del cultivo	
12	A	Zacapa	5				1	Pacifloraceae	Fetida ?		0													Muestreo alrededor del cultivo	
13	A	Zacapa	SSA				1	Mimosaceae			0													Muestreo alrededor del cultivo	
14	A	Zacapa	1				1	?			0													Muestreo alrededor del cultivo	
15	A	Zacapa	3				1	Mimosaceae	Pithecolodium?		0													Muestreo alrededor del cultivo	
16	A	Zacapa	8	13			1	Boraginaceae			0													Muestreo alrededor del cultivo	
17	A	Zacapa	SSA				1	Boraginaceae ?			0													Muestreo en campo MIP	
18	A	Zacapa	SSA				1	Convolvulaceae	Ipomea	<i>I. nil (L) Roth ?</i>	0													Muestreo en campo MIP	
19	A	Zacapa	2				1	?			0													Muestreo en campo MIP	
20	A	Zacapa	2				1	Amaranthaceae?			0													Muestreo en campo MIP	
21	A	Zacapa	5				1	Mimosaceae ?			0													Muestreo en campo MIP	
22	A	Zacapa	2				1	?			0													Muestreo en campo MIP	
23	A	Zacapa	22				1	Amaranthaceae	Amaranthus	<i>A. spinosus (L)</i>	0													Muestreo en campo MIP	
24	A	Zacapa	5				1	Boraginaceae	Cordia		0													Muestreo en campo MIP	
25	A	Zacapa	1				1	Mimosaceae?			0												Gallito	Muestreo en campo MIP	
26	A	Zacapa	4				1	Mimosaceae			0													Muestreo en campo MIP	
27	A	Zacapa	8	15			1	Euphorbiaceae	Euphorbia		0													Muestreo en campo MIP	
28	A	Zacapa	4				1	Mimosaceae ?			0													Muestreo en campo MIP	
29	A	Zacapa	8				1	Mimosaceae?			0													Muestreo en campo MIP	
30	A	Zacapa	12	15			1	Mimosaceae ?			0													Muestreo en campo MIP	
31	A	Zacapa	4	23			1	Solanaceae ??			0												mal estado NM	Muestreo en campo MIP	
32	A	Zacapa	SSA				1	?			0													Muestreo en campo MIP	
33	A	Zacapa	3				1	?			0													Muestreo en campo MIP	
34	A	Zacapa	SSA				1	Malvaceae			0													Muestreo en campo MIP	
35	A	Zacapa	SSA				1	Leguminosae ?	Cassia	<i>C. occidentalis ?</i>	0													Muestreo en campo MIP	
36	A	Zacapa	SSA				1	Compositae ?			0													Muestreo en campo MIP	
37	A	Zacapa	SSA				1	Mimosaceae?			0													Muestreo en campo MIP	
38	A	Zacapa	SSA				1	Mimosaceae	Mimosa ?		0													Muestreo en campo MIP	
39	A	Zacapa	3				1	Mimosaceae ?			0													Muestreo en campo MIP	
40	A	Zacapa	2				1	?			0													Muestreo en campo MIP	
41	A	Zacapa	SSA				1	Anacardiaceae?			0													Muestreo en campo MIP	

NOTA: En la tabla anterior, los números 1 significan positividad o presencia, mientras los números 0 significan negatividad o ausencia. Las fincas se han clasificado con letras para no evidenciar la identidad de sus dueños como un acuerdo pactado.

Continuación del Cuadro No. 18 Descripción general de las muestras colectadas.

146	E	5				1	Compositae				1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	Muestreo alrededor del cultivo sano	
147	E	SSA				1					0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
148	E	SSA				1					0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
149	E	9	14			1	Solanacea				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
150	E	SSA				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
151	E	SSA				1	Compositae		Mejorana		0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
152	E	8				1	Verbenaceae				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
153	E	5				1	Verbenaceae	Lantana			0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
154	F	SSA				1	Amaranthaceae	Amaranthus			0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
155	F	3	5			1	Convolvulaceae ?				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
156	F	5				0	Compositae				1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Muestreo alrededor del cultivo sano
157	F	9				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
158	F	1				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
159	F	9				1	Convolvulaceae				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
160	F	5	12			1	?				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
161	F	2				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
162	F	5				1	Convolvulaceae??				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
163	F	25				1	Convolvulaceae	Ipomea			0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
164	F	5				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivo sano
165	G	4				1	árbol ?				0																		Muestreo alrededor del cultivos
166	G	9	15	18		1	?				0																		Muestreo alrededor del cultivos
167	G	5	15			1	?				0																		Muestreo alrededor del cultivos
168	G	11	10			1	Convolvulaceae	Ipomea			0																		Muestreo alrededor del cultivos
169	G	SSA				1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
170	G	SSA				1	Mimosaceae				1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Muestreo alrededor del cultivos
171	G	1				1	Convolvulaceae ?				0																		Muestreo alrededor del cultivos
172	G	8	26			1	árbol ?				0																		Muestreo alrededor del cultivos
173	G	15				1	?				1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	Muestreo alrededor del cultivos
174	G	SSA	MB			1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
175	G	9				1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
176	G	SSA				1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
177	G	SSA	MB			1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
178	G	15				1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
179	G	MB	5			1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
180	G	1				1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
181	G	5				1	Convolvulaceae	Ipomea			0																		Muestreo alrededor del cultivos
182	G	SSA				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
183	G	15	12			1					0																		Muestreo alrededor del cultivos
184	G	SSA				1	Euphorbiaceae ?				0																		Muestreo alrededor del cultivos
185	G	5	MB			1	Fabaceae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
186	G	5				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
187	G	5	13			1	Verbenaceae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
188	G	SSA				1	Amaranthaceae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
189	G	SSA				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
190	G	SSA				1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
191	G	SSA				1	Compositae?				0																		Muestreo alrededor del cultivos
192	G	SSA				1	Lamiaceae	Salvia			0																		Muestreo alrededor del cultivos
193	G	9				1	Sterculiaceae-Boraginaceae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
194	G	SSA				1	Convolvulaceae	Ipomea			0																		Muestreo alrededor del cultivos
195	G	5				1	Verbenaceae	Lantana			0																		Muestreo alrededor del cultivos
196	G	SSA				1	Fabaceae				0																		Muestreo alrededor del cultivos
197	G	27	MB			1	Compositae				0																		Muestreo alrededor del cultivos

NOTA: En la tabla anterior, los números 1 significan positividad o presencia, mientras los números 0 significan negatividad o ausencia. Las fincas se han clasificado con letras para no evidenciar la identidad de sus dueños como un acuerdo pactado.

Continuación del Cuadro No. 18 Descripción general de las muestras colectadas.

302	K	SSA						Compositae			1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	
303	K	1						Cucurbitaceae			1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	
304	K	SSA						Cucurbitaceae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	Sin Flor
305	K	29						Cucurbitaceae	Cucurbita	Zuchini o suchini	0											Cultivo	
306	K	SSA	MB					Compositae			1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
307	K	SSA						Amaranthaceae	Amaranthus	Bledo espinoso	0												
308	K	5						Fabaceae			0												
309	K	5						?			0											Mal estado	
310	K	SSA						Portulacaceae	Portulaca		0												
311	K	SSA						Cucurbitaceae			0												
312	K	30						Convolvulaceae ?			0												
313	K	5						Compositae			0												
314	K	MB	NIN					?			0												
315	K	SSA	MB	NIN				Compositae			0												
316	K	MB	28					Convolvulaceae			0											59	
317	K	SSA						Solanaceae			0												
318	K	SSA						?			0												
319	K	5						Verbenaceae			0												
320	K	MB	5	28				Solanaceae			0												
321	K	MB	5	28				Compositae			0												
322	K	SSA						Compositae ??			0											Sin Flor, Mal Estado	
323	K	3	10					?			0											Sin Flor	
324	K	1						?			0											Sin Flor (70)	
325	K	SSA						Lamiaceae			0												
326	K	NIN	9	14				?			0												
327	K	27						Compositae			0											Mal Estado	
328	K	15	2					?			0											Sin Flor	
329	K	SSA						?			0											Sin Flor	
330	K	SSA						Convolvulaceae ?			0												
331	K	SSA						Solanaceae ?			0												
332	K	SSA						Compositae			0												
333	K	3						Compositae			0												
334	K	SSA						Solanaceae	Miltomate de culel		0												
335	K	15	4					?			0											Sin Flor	
336	K	SSA						?			0											Mal Estado	
337	K	5						Compositae			0												
338	K	SSA						?			0											Sin flor	
339	K	SSA						?			0												
340	L	SSA						Fabaceae			0												
341	L	5						Compositae ?			0												
342	L	SSA									0											No hay muestra	
343	L	31						Amaranthaceae	Amaranthus	Bledo espinoso	0												
344	L	SSA						Compositae			0												
345	L	SSA						?			0												
346	L	SSA						?			0												
347	L	16						Lamiaceae			0												
348	L	MB						?			0												
349	L	28	15					Boraginaceae			0												
350	L	SSA	MB					?			0												
351	L	6						?			0												
352	L	9	MB					?			0											árbol sin flor	
353	L	5						?			0												

NOTA: En la tabla anterior, los números 1 significan positividad o presencia, mientras los números 0 significan negatividad o ausencia. Las fincas se han clasificado con letras para no evidenciar la identidad de sus dueños como un acuerdo pactado.

B. Apéndice B: cuantificación de ADN

Cuadro No. 19
Soluciones y materiales empleados para la cuantificación de ADN

Material	Descripción
Espectrofotómetro	Thermospectronic modelo Genesys 10UV
Celdas de cuarzo	Capacidad de 400 µl
Tipo de análisis	ADN de doble hebra
Factor de dilución	80
Soluciones	395 µl Buffer TE
ADN	5 µl

C. Apéndice C: Protocolos empleados para la realización de PCR y secuencia de los cebadores empleados

Protocolos empleadas para la detección del género *Begomovirus*

Cuadro No. 20
Mezcla de reacción para detección de geminivirus por PCR

Reactivo	Concentración stock	Volumen a agregar del stock
Agua doble destilada	--	13.3 µl
Solución Amortiguadora	5X	5.0 µl
MgCl ₂	25mM	2.5 µl
Cebador 514	20mM	0.75 µl
Cebador 1048	20mM	0.75 µl
dNTP's	2.5mM	1.5 µl
Taq ADN polimerasa	5U/ µl	0.2 µl
ADN	--	0.75 µl

Cuadro No. 21
Secuencia de iniciadores degenerados

P514	5'GCCCATGTATAGAAAGCCAAG 3' A A C G G
P1048	5'GGATTAGAGGCATGTGTACATG 3' G G A A T C

(Wyatt y Brown 1996)

Cuadro No. 22
Programa de amplificación para detección de geminivirus por PCR

Paso 1:	2 minutos a 95°C
Paso 2:	1.30 minutos a 95°C
Paso 3:	1.30 minutos a 58°C
Paso 4:	1.30minuto a 72°C
Ir al paso 2, 29 veces	
Paso 5:	10 minutos a 72°C
Paso 6:	4°C indefinidamente

Protocolos empleadas para la detección de *Begomovirus* específicos

Cuadro No. 23
Mezcla de PCR para identificación de especies específicas de *Begomovirus* en malezas

Reactivo	Concentración stock	Volumen a agregar del stock
Agua doble destilada	--	8.8 µl
Solución Amortiguadora	5X	5.0 µl
MgCl ₂	25mM	3.0 µl
Cebador 1	20mM	2.0 µl
Cebador 2	20mM	2.0 µl
dNTP's	2.5mM	2.5 µl
Taq ADN polimerasa	5U/ µl	0.2 µl
ADN	--	1.5 µl

Cuadro No. 24
Iniciadores de PCR específicos para la detección de 8 *Begomovirus* identificados en Centro América y sus respectivas temperaturas de hibridización

No.	Nombre	Tm	Tm	VIRUS	SECUENCIA
1	PHYVVv	68	55	Pepper huasteco yellow vein virus	GCAGCGGCATCACATACATTATCAGAC
2	PHYVVc	66			GCCCTCACGTGTACGAAGATCCTAG
3	ToSLCVG1v	60	60	Tomato severe leaf curl virus	CGTCGTCTTTGTTTTGATTTTGT
4	ToSLCVG1c	64			GGGACACCAGGACACCAGC
5	ToGMoVG2v	64	60	Tomato golden mottle virus	TGAAGTGCTTCTTGCCTCCAAC
6	ToGMoVG2c	61			GTCTCCAAGCGCTATCTGAGG
7	ToMiMoVH1v	71	56	Tomato mild mottle virus	CATTTAGGGCCTCTGCGGCAGC
8	ToMiMoVH1c	55			GAGATTGAAAGTTTCTATAGGACC
9	ToMHVH2v	69	58	Tomato mosaic Havana virus	CCTTTGCATATGTATCGTTGGCCGA
10	ToMHVH2c	59			GGAACAAGATTAATAGTTTCTATAGAGGG
11	ToYMoVC1v	61	63	Tomato yellow mottle virus	TCTGTAGTGCAGATTCAGTAGACCC
12	ToYMoVC1c	66			GGAACCCAATTGGTGTACGCTC
13	ToLCSinVC2v	66	60	Tomato leaf curl Sinaloa virus	GAAATGTTGTGGTTGTTCTTCCCG
14	ToLCSinVC2c	55			GTCCCAAACTCCATAGAGAG
15	PepGMVG3v	65	60	Pepper golden Mosaic virus	CGTCGTCTTTATTGGCCTTGGA
16	PepGMVG3c	58			CAGAAGTTGAGAACTCTCCTGG

Cuadro No. 25
Programa de amplificación para identificación de especies específicas de *Begomovirus*

Paso 1:	30 segundos 96°C
Paso 2:	30 segundos a la temperatura de hibridación descrita en el cuadro No. 26
Paso 3:	35 segundos a 72°C
Al Paso 2, 29 veces	
Paso 5:	5 minutos a 72°C
Paso 6:	4°C indefinidamente

**La temperatura de hibridación en éste caso depende de cada juego de cebadores, por lo que el programa del termociclador varió en base a ello.

D. Apéndice D: Procedimiento para electroforesis en gel de agarosa modificado de Ávalos 2004

Cuadro No. 26
Soluciones y materiales empleados para la electroforesis en gel de agarosa

Material	Descripción / cantidad
Cámara TM	15 x 15 (cm)
Peine	16 pozos (x2)
Solución de agarosa	45 ml
Tampón de reservorio TAE 1X	1L
Tinción	Bromuro de etidio
Muestra de ADN	7 µl
Buffer de carga 6X	2 µl

Se preparó la cámara enjuagando las piezas con agua destilada y se colocaron los peines uno después del otro a una distancia aproximada de 6cm. Para la solución de agarosa se emplearon 0.69 g de agarosa en 45 ml de buffer TAE 1X (1.5%), que se disolvieron mediante la función “calentado de bebidas” del horno microondas. Cuando la temperatura de la solución de agarosa disminuyó a aproximadamente 50°C se llenó la cámara, se colocaron los peines y se esperó la solidificación para retirarlos. Se recubrió el gel con tampón de carga, (buffer TAE 1X) hasta las marcas en la cámara indicadas por el fabricante, y se ajustó el voltaje entre 80 y 90V durante 45 minutos. Al finalizar la electroforesis, el gel se colocó en una bandeja rotulada para bromuro de etidio para realizar la tinción durante aproximadamente 3–4 minutos, con agitación constante moderada. El exceso de bromuro de etidio se eliminó sumergiendo el gel en agua corriente con agitación constante moderada, durante 5 minutos. Para la visualización de las bandas se empleó un transiluminador ultravioleta y se tomó una fotografía del gel con la mayor resolución posible. El gel se descartó como sólido. El criterio de selección de muestras se basó en la presencia de las bandas de ADN características de la presencia de *Begomovirus*.

E. Apéndice E: Otros Cuadros

Cuadro No. 27

Descripción de las muestras positivas para *Begomovirus* general en las 949 muestras de maleza analizadas los 14 departamentos

No.	Finca	Depto.	Sinto	Sinto	Sinto	Sinto	Sinto	Herboriz	Familia	Género	Especie	Begomovirus	Golden	Havana	Huasteco	Leaf	G.Monte	Mild	Yellow	Shalva	No. identificado	Sin Especificos	Anillo (AV)	Nombre común	
93	C	Zacapa	SSA					1	Onagraceae	Jussiacae	<i>J. suffruticosa</i> var. <i>Octoflora</i> (D.C.) Munz	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
112	D	Escuintla	SSA					1	Gramineae	Setaria	<i>S. palmifolia</i> (Koen) Stapf	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
114	D	Escuintla	5					1	Cucurbitaceae	Momordia	<i>M. charantia</i>	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
123	D	Escuintla	SSA					1	Cucurbitaceae	Momordia	<i>M. charantia</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
144	E	Escuintla	SSA					1	Amaranthaceae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
146	E	Escuintla	5					1	Compositae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
156	F	Escuintla	5					0	Compositae			1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
170	G	Santa Rosa	SSA					1	Mimosaceae			1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
173	G	Santa Rosa	15					1	?			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
210	G	Santa Rosa	SSA					1	Fabaceae			1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
247	H	Santa Rosa	8					1				1										1	1		
265	I	Jalapa	33	5					?			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
270	I	Jalapa	10	15	2	17		0	Cucurbitaceae	Cucurbita	<i>C. pepo</i> L.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	Succini, Calabazin	
293	J	Chiquimula	SSA						Solanaceae			1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
302	K	Chiquimula	SSA						Compositae			1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0		
303	K	Chiquimula	1						Cucurbitaceae			1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
304	K	Chiquimula	SSA						Cucurbitaceae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
306	K	Chiquimula	SSA	MB					Compositae			1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
374	M	Jutiapa	SSA						?			1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
401	N	Jutiapa	SSA						Rubiaceae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
404	N	Jutiapa	SSA	8					Lamiaceae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
450	O	Jutiapa	SSA	MB					?			1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0		
478	Q	Alta Verapaz	SSA						Compositae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
504	R	Alta Verapaz	SSA						Compositae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
511	S	Baja Verapaz	9	5					Solanaceae			1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1		
535	T	Baja Verapaz	27						?			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
577	W	Quiché	3	MB				1	Fabaceae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
581	W	Quiché	15						Solanaceae			1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	chiltepe güisquil	
618	Y	Quiché	MB					0	Cucurbitaceae	Secchium	<i>S. idole</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1		
659	AA	Huehuetenango	8						Verbenaceae			1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0		
669	AA	Huehuetenango	2					0				1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0		
695	AC	Quetzaltenango	SSA					1	Compositae			1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
742	AE	Guatemala	MB	SSA			21	1	Compositae			1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0		
745	AE	Guatemala	MB	4			24	1	Compositae			1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
755	AF	Guatemala	MB	SSA			34	1	Solanaceae			1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
782	AG	Guatemala	MB	SSA			61	1	Fabaceae			1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
806	AH	Chimaltenango	MB	8			85	0	Solanaceae	Capsicum	<i>C. annuum</i> var. <i>Annuum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
808	AH	Chimaltenango	MB	4	NIN		87	0	Solanaceae	Capsicum	<i>C. annuum</i> var. <i>Annuum</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0		
809	AH	Chimaltenango	MB	27			88	0	Solanaceae	Capsicum	<i>C. annuum</i> var. <i>Annuum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
811	AH	Chimaltenango	MB	SSA			90	1	Solanaceae		<i>C. annuum</i> var. <i>Annuum</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0		
876	AM	El Progreso	SSA				41D	0	Gramineae			1										1	0		
877	AM	El Progreso	4	5			42D	0	Cucurbitaceae			1											1	1	
879	AM	El Progreso	4	15			44D	0	Solanaceae			1											1	0	
887	AN	El Progreso	2				52E	1				1	1	1	0	1	0	1	0	0			0	1	
900	AN	Baja Verapaz	15				65F	1				1											1	0	
915	AO	Baja Verapaz	4	8	15		80G	0	Solanaceae			1											1	0	
918	AO	Baja Verapaz	15	27			83G	0	Solanaceae			1											1	0	
927	AP	Baja Verapaz	1	2			92H	1				1											1	0	
TOTAL												48	9	10	4	15	1	2	3	0	22	8	13		
% Total Muestreado												5.06%	0.95%	1.05%	0.42%	1.58%	0.11%	0.21%	0.32%	0.00%	2.32%	0.84%	1.37%		
% Positivas												100.00%	20.45%	22.73%	9.09%	34.09%	2.27%	4.55%	6.82%	0.00%	50.00%	18.18%	29.55%		

Cuadro No. 28
Distribución de *Begomovirus general* en los 14 departamentos estudiados y su respectivo porcentaje de incidencia

Departamento	Positivas Begomovirus	Porcentaje con respecto al total de positivas
Alta Verapaz	2	4.17%
Baja Verapaz	6	12.50%
Chimaltenango	4	8.33%
Chiquimula	5	10.42%
El Progreso	4	8.33%
Escuintla	6	12.50%
Guatemala	4	8.33%
Huehuetenango	2	4.17%
Jalapa	2	4.17%
Jutiapa	4	8.33%
Quetzaltenango	1	2.08%
Quiché	3	6.25%
Santa Rosa	4	8.33%
Zacapa	1	2.08%
Total	48	100.00%

Cuadro No. 29
Distribución de *Begomovirus específicos* a partir de la 949 muestras estudiadas y su respectivo porcentaje de incidencia con respecto a las muestras positivas para *Begomovirus General*

Virus específico	Muestras positivas	Porcentaje de incidencia
Leaf	15	34.09 %
Havana	10	22.73 %
Golden	9	20.45 %
Huasteco	4	9.09 %
Yellow	3	6.82 %
Mild	2	4.55 %
Mottle	1	2.27 %
Sinaloa	0	0.00 %
Total	44	100.00 %

Cuadro No. 30
Distribución de Golden por Departamento

Departamento	Positivas Golden	Porcentaje respecto al total de Golden	Porcentaje respecto al total de <i>Begomovirus</i>
Chiquimula	2	22.22%	4.55%
El Progreso	1	11.11%	2.27%
Escuintla	2	22.22%	4.55%

Continuación Cuadro No. 30

Departamento	Positivas Golden	Porcentaje respecto al total de Golden	Porcentaje respecto al total de <i>Begomovirus</i>
Jutiapa	1	11.11%	2.27%
Quetzaltenango	1	11.11%	2.27%
Quiché	1	11.11%	2.27%
Santa Rosa	1	11.11%	2.27%
Total	9	100.00%	20.45%

Cuadro No. 31
Distribución de Havana por Departamento

Departamento	Positivas Havana	Porcentaje respecto al total de Havana	Porcentaje respecto al total begomo
Baja Verapaz	1	10.00%	2.27%
Chiquimula	2	20.00%	4.55%
El Progreso	1	10.00%	2.27%
Escuintla	2	20.00%	4.55%
Guatemala	1	10.00%	2.27%
Jutiapa	1	10.00%	2.27%
Quiché	1	10.00%	2.27%
Santa Rosa	1	10.00%	2.27%
Total	10	100.00%	22.73%

Cuadro No. 32
Distribución de Leaf por Departamento

Departamento	Positivas Leaf	Porcentaje respecto al total de Leaf	Porcentaje respecto al total begomo
Chimaltenango	1	6.67%	2.27%
Chiquimula	3	20.00%	6.82%
El Progreso	1	6.67%	2.27%
Escuintla	1	6.67%	2.27%
Guatemala	2	13.33%	4.55%
Huehuetenango	2	13.33%	4.55%
Jutiapa	1	6.67%	2.27%
Quiché	2	13.33%	4.55%
Santa Rosa	1	6.67%	2.27%
Zacapa	1	6.67%	2.27%
Total	15	100.00%	34.09%

Cuadro No. 33
Distribución de Huasteco por Departamento

Departamento	Positivas Huasteco	Porcentaje respecto al total de Huasteco	Porcentaje respecto al total begomo
Chiquimula	1	25.00%	2.27%
Escuintla	2	50.00%	4.55%
Santa Rosa	1	25.00%	2.27%
Total	4	100.00%	9.09%

Cuadro No. 34
Distribución de Mottle por Departamento

Departamento	Positivas Mottle	Porcentaje respecto al total de Mottle	Porcentaje respecto al total begomo
Jutiapa	1	100.00%	2.27%
Total	1	100.00%	2.27%

Cuadro No. 35
Distribución de Mild por Departamento

Departamento	Positivas Mild	Porcentaje respecto al total de Mild	Porcentaje respecto al total begomo
El Progreso	1	50.00%	2.27%
Guatemala	1	50.00%	2.27%
Total	2	100.00%	4.55%

Cuadro No. 36
Distribución de Yellow por Departamento

Departamento	Positivas Yellow	Porcentaje respecto al total de Yellow	Porcentaje respecto al total begomo
Baja Verapaz	1	33.33%	2.27%
Chimaltenango	1	33.33%	2.27%
Jutiapa	1	33.33%	2.27%
Total	3	100.00%	6.82%

Cuadro No. 37
Distribución regional de *Begomovirus* y sus especies estudiadas
en los 14 departamentos de Guatemala

Región	Porcentaje de virus por área respecto al porcentaje total de cada virus						
	Golden	Leaf	Yellow	Mottle	Mild	Huasteco	Havana
Central norte	0.00	19.97	66.60	0.00	50.00	0.00	20.00
Este	33.30	33.34	0.00	0.00	50.00	25.00	30.00
Costa Sur	22.20	6.67	0.00	0.00	0.00	50.00	20.00
Sur	22.20	13.34	33.30	100.00	0.00	25.00	20.00
Occidente	22.20	26.60	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00

NOTA: Los cuadros que muestran la distribución de los virus específicos (Golden, Huasteco, Havana, Yellow, Mild, Mottle, Leaf), presentan dos categorías que se aclaran a continuación:

- **Dudosa :** Malezas cuyo origen no fue posible clasificar por la botánica
- **No determinada:** Malezas que aún no han sido clasificadas por la botánica ya sea por tiempo o porque no se cuenta con el material vegetal necesario.

Cuadro No. 38
Distribución de Golden por familia de maleza

Familia	Positivas Golden	Porcentaje de positivas respecto a Golden
Compositae	2	22.22 %
Cucurbitaceae	2	22.22 %
Solanaceae	2	22.22 %
Dudosa	1	11.11 %
Mimosaceae	1	11.11 %
No determinada	1	11.11 %
Total general	9	100.00 %

Cuadro No. 39
Distribución de Havana por familia de maleza

Familia	Positivas Havana	Porcentaje positivas
Solanaceae	4	40.00
Compositae	2	20.00
Dudosa	1	10.00
Cucurbitaceae	1	10.00
Mimosaceae	1	10.00
No determinada	1	10.00
Total general	10	100.00

Cuadro No. 40
Distribución de Leaf por familia de maleza

Familia	Positivas Leaf	Porcentaje positivas
Dudosa	1	6.67
Compositae	3	20.00
Cucurbitaceae	2	13.33
Fabaceae	1	6.67
Mimosaceae	1	6.67
Onagraceae	1	6.67
Solanaceae	3	20.00
Verbenaceae	1	6.67
No determinada	2	13.33
Total general	15	100.00

Cuadro No. 41
Distribución de Huasteco por familia de maleza

Familia	Positivas Huasteco	Porcentaje positivas
Cucurbitaceae	1	25.00
Fabaceae	1	25.00
Graminea	1	25.00
Solanaceae	1	25.00
Total general	4	100.00

Cuadro No. 42
Distribución de Mottle por familia de maleza

Familia	Positivas Mottle	Porcentaje positivas
Dudosa	1	100.00
Total general	1	100.00

Cuadro No. 43
Distribución de Mild por familia de maleza

Familia	Positivas Mild	Porcentaje positivas
Compositae	1	50.00
No Determinada	1	50.00
Total general	2	100.00

Cuadro No. 44
Distribución de Yellow por familia de maleza

Familia	Positivas Yellow	Porcentaje positivas
Dudosa	1	33.33
Solanaceae	2	66.67
Total general	3	100.00

Cuadro No. 45
Altura y coordenadas de las muestras empleadas para realización del mapa de distribución de Begomovirus, en los 14 departamentos de Guatemala

No.	Muestra	Altura	Coordenadas		UTM NAD 27		UTM WGS 84	
			N	O	Este (mE)	Norte (mN)	Este (mE)	Norte (mN)
1	93	268	14.97169	89.77171	201879.858	1657058.71	201879.858	1657058.71
2	112	56	14.20000	91.30000	35651.8113	1574028.95	35657.931	1574125.66
3	114	56	14.20000	91.30000	35651.8113	1574028.95	35657.931	1574125.66
4	123	56	14.20000	91.30000	35651.8113	1574028.95	35657.931	1574125.66
5	144	1.2	13.96667	91.35000	29764.393	1548258.95	29770.5575	1548354.19
6	146	1.2	13.96667	91.35000	29764.393	1548258.95	29770.5575	1548354.19
7	156	0.9	13.96667	91.35000	29764.393	1548258.95	29770.5575	1548354.19
8	170	0.9	13.96667	91.35000	29764.393	1548258.95	29770.5575	1548354.19
9	173	0.9	13.96667	91.35000	29764.393	1548258.95	29770.5575	1548354.19
10	210	1000.0	14.51111	90.36111	137659.778	1606820.36	137664.579	1606919.06
11	247	1000.0	14.51111	90.36111	137659.778	1606820.36	137664.579	1606919.06
12	265	1283	14.65698	89.99709	177148.988	1622425.4	177153.279	1622525.02
13	270	1283	14.65698	89.99709	177148.988	1622425.4	177153.279	1622525.02
14	293	784	14.63036	89.63883	215732.551	1618997.63	215736.325	1619097.1
15	302	365	14.77073	89.54845	225649.958	1634423.91	225653.612	1634524.25
16	303	365	14.77073	89.54845	225649.958	1634423.91	225653.612	1634524.25
17	304	365	14.77073	89.54845	225649.958	1634423.91	225653.612	1634524.25
18	306	365	14.77073	89.54845	225649.958	1634423.91	225653.612	1634524.25
19	374	1017	14.39954	89.84058	193666.175	1593705.68	193670.221	1593803.68
20	401	1031	14.4041	89.83026	194786.113	1594196.8	194790.144	1594294.84
21	404	1031	14.4041	89.83026	194786.113	1594196.8	194790.144	1594294.84
22	450	1044	14.4222	89.85948	191657.66	1596239.71	191661.734	1596337.86
23	478	1471	15.32321	90.34625	140617.355	1696746.77	140622.2	1696850.54
24	504	1471	15.32321	90.34625	140617.355	1696746.77	140622.2	1696850.54
25	511	924	15.06188	90.27599	147736.207	1667687.09	147740.937	1667789.24
26	535	965	15.06248	90.2865	146605.991	1667770.39	146610.736	1667872.55
27	577	1164	15.28214	91.17939	50927.5514	1693751.27	50933.6228	1693854.77
28	581	1164	15.28214	91.17939	50927.5514	1693751.27	50933.6228	1693854.77
29	618	1230	15.28346	91.14659	54460.046	1693829.88	54466.0695	1693933.39

Continuación Cuadro No. 45

No.	Muestra	Altura	Coordenadas		UTM NAD 27		UTM WGS 84	
			N	O	Este (mE)	Norte (mN)	Este (mE)	Norte (mN)
30	659	1751	15.37866	91.57187	8907.80827	1705308.07	8914.46903	1705412.16
31	669	1751	15.37866	91.57187	8907.80827	1705308.07	8914.46903	1705412.16
32	695	2192	14.81223	91.48875	16567.9445	1642305.82	16574.4112	1642406.38
33	742	858.9	14.03259	90.63251	107539.006	1554254.44	107544.152	1554350.11
34	745	858.9	14.03259	90.63251	107539.006	1554254.44	107544.152	1554350.11
35	755	882.9	14.45842	90.63251	108276.021	1601431.25	108281.208	1601529.61
36	782	870.2	14.49533	90.58477	113494.232	1605439.13	113499.354	1605537.72
37	806	1768	14.60778	90.58477	113690.325	1617896.85	113695.458	1617996.15
38	808	1768	14.60778	90.58477	113690.325	1617896.85	113695.458	1617996.15
39	809	1768	14.60778	90.58477	113690.325	1617896.85	113695.458	1617996.15
40	811	1768	14.60778	90.58477	113690.325	1617896.85	113695.458	1617996.15
41	876	973	14.81667	90.20000	155523.405	1640409.88	155528.002	1640510.5
42	877	973	14.81667	90.20000	155523.405	1640409.88	155528.002	1640510.5
43	878	973	14.81667	90.20000	155523.405	1640409.88	155528.002	1640510.5
44	887	973	14.81667	90.20000	155523.405	1640409.88	155528.002	1640510.5
45	900	972	15.08022	90.27341	148044.098	1669713.86	148048.825	1669816.13
46	915	971	15.10000	90.33333	141628.112	1672001.95	141632.929	1672104.34
47	918	971	15.10000	90.33333	141628.112	1672001.95	141632.929	1672104.34
48	927	987	15.08333	90.30000	145187.586	1670101.81	145192.353	1670204.1

Cuadro No. 46

Lista de reactivos empleados para los diferentes procedimientos de laboratorio, descritos con antelación, en la sección de metodología

Reactivo	Marca	Especificaciones
Tris-HCl	Sigma	Grado reactivo
Nodidet p-40	Sigma	Grado reactivo
EDTA	Sigma	Grado reactivo
Proteínasa K	Sigma	Grado biología molecular
Deoxinucleótidos trifosfatados	Promega	Grado biología molecular
Solución amortiguadora 10x para PCR	Promega	Grado biología molecular
Taq ADN polimerasa	Promega	Grado biología molecular
Ácido bórico	J. T. Baker	Grado reactivo
Agarosa	Merck	Grado biología molecular
Marcador de masa molecular de 1Kb	Promega y Eurogentec	Grado biología molecular
Formamida	Merck	Grado reactivo
Azul de bromofenol	Merck	Grado reactivo
Xilen cianol	Merck	Grado reactivo
Hidróxido de sodio	Merck	Grado biología molecular
Acrilamida	Merck	Grado biología molecular
Bisacrilamida	Merck	Reactivo pureza electroforesis
Nitrato de plata	Merck	Grado reactivo
Ácido acético	Merck	Grado reactivo

Continuación Cuadro No. 46

Reactivo	Marca	Especificaciones
Carbonato de sodio	Merck	Grado reactivo
TEMED	Merck	Grado reactivo
Persulfato de amonio	Sigma	Grado reactivo
Tiosulfato de sodio	J. T. Baker	Grado reactivo
Aceite mineral	Sigma	Grado biología molecular
Bromuro de etidio	Fisher Biotech	Reactivo pureza electroforesis
Formaldehído al 37%	Merck	Grado reactivo
Cebadores (tanto generales como específicos)	Invitrogen	Ver secuencias en apéndice B

Cuadro No. 47

Lista del equipo empleado para los diferentes procedimientos de laboratorio, descritos con antelación, en la sección de metodología

Equipo	Marca	Especificaciones
Refrigerador		
Termociclador	MJ Reserch, Inc.	Modelo PTC-100
Fuente de poder	Sigma Aldrich Techware	PS 251-1
Cámara de electroforesis horizontal		Mod. E 0638; 259 V DC; límites de operación: 250V DC, 15W, 60mA, 50°C
Cámara de electroforesis vertical	Bio-Rad Mini Protean III	
Bloque térmico	Thermolyne	
Micropipetas	Eppendorf	2, 10, 200, 1000µl
Blanza analítica	Mettler	Modelo AE 163
Esteroscopio	Heerburg	Modelo M3Z
Transluminador UV		

Cuadro No. 48

Lista del otros materiales utilizados en los diferentes procedimientos de laboratorio, descritos con antelación, en la sección de metodología

Material	Medida
Probetas	10, 50 y 100 ml
Beakers	50, 100, 250 y 500 ml
Agitadores magnéticos	-----
Papel encerado	-----
Tubos <i>eppendorf</i>	0.2, 0.5, 1.5 y 2.0 ml
Cajas petri	-----
Bulbos para pipetas	-----
Filtros <i>nalgene</i>	-----
Gradillas	-----
Puntas para micropipetas	10, 100, 200 y 1,000 ul
Parafilm	-----
Espátulas	-----
Frascos de vidrio	150, 250, 500 y 1,000 ml
Pipetas pasteur	-----

F. Apéndice F: Otras soluciones

Cuadro No. 49
Stock de buffer TAE 50X, para un litro

Reactivo	Cantidad
Tris base	242 g
Acido acético	57.1 ml
EDTA 0.5M pH 8.0	100.0 ml

Ajustar volumen a un litro con 980 ml. de agua doble destilada y esterilizar el stock.

Cuadro No. 50
Buffer TAE 1X, para un litro

Reactivo	Cantidad
Buffer TAE 50X	20 ml
Agua desmineralizada	980 ml