

Virosis en cultivos ornamentales: medidas para el control de la enfermedad

L. Galipienso^{1,6}, M.I. Font-San-Ambrosio², S. Davino^{1,3}, A. Alfaro-Fernández², M.G. Bellardi⁴, M. Davino⁵, D. Debreczeni⁶, L. Rubio^{1,6}

¹Euro-Mediterranean Institute of Science and Technology (IEMEST), Via E. Amari 123, 90139 Palermo, Italia (luisgalipienso@iemest.eu)

²Grupo de Virología, Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Cno. Vera s/n, 46022 Valencia, España

³Department of Agricultural and Forestry Science (SAF), University of Palermo, Viale delle Scienze Ed. 5, 90100 Palermo, Italia

⁴Dipartimento di Scienze Agraria, Alma Mater Studiorum University of Bologna, Viale Fanin 42, 40126 Bologna, Italia

⁵Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie ed Alimentari (DISPA), University of Catania, Via S. Sofia 100, 95100 Catania - Italia

⁶Departamento de Virología, Centro de Protección Vegetal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, Valencia, España

Resumen

Los virus son organismos muy sencillos que se multiplican dentro de las células vegetales y aunque no suelen provocar la muerte de la planta, inducen síntomas que disminuyen el rendimiento y la calidad del cultivo reduciendo su valor comercial. Sin embargo, algunos síntomas de origen vírico tienen cierto valor ornamental y son explotados con fines comerciales, como ocurre con el virus del variegado del tulipán (*Tulip breaking virus*, TBV). Los síntomas más característicos que inducen los virus son enanismo, clorosis, necrosis y deformación foliar, variaciones de color de la hoja y en la flor en forma de mosaicos, moteados, rayas o manchas anulares. La mayoría de los virus se transmiten mediante organismos vectores que se alimentan de la planta: insectos, ácaros, hongos y nematodos; otros se dispersan por contacto físico y por las herramientas agrícolas (transmisión mecánica) y unos pocos se propagan por semilla. Dentro de los virus con más impacto en los cultivos ornamentales están el virus del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV), el virus del bronceado del tomate (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), el virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*, TMV) y el virus del rayado del tabaco (*Tobacco streak virus*, TSV), que también causan graves daños en otros cultivos. El control de las enfermedades producidas por los virus se basa en la aplicación de medidas preventivas como el uso de material propagativo libre de virus mediante certificación de semillas o plántulas en vivero, eliminación de plantas infectadas en el cultivo y durante el proceso de comercialización, control de los vectores (insectos, hongos, nemátodos), desinfección de las herramientas, limpieza de malas hierbas (reservorios de virus) dentro y fuera del invernadero, etc. Para ello es necesario un monitoreo rutinario mediante la observación visual de síntomas y el uso de técnicas para el diagnóstico rápido, sensible y fiable tanto de los virus más importantes como de los de nueva implantación o virus emergentes.

Palabras clave: virus, enfermedad, diagnóstico, certificación

INTRODUCCIÓN

La horticultura ornamental tiene un elevado impacto económico en todo el mundo. La superficie global dedicada a este cultivo es de aproximadamente 1.300.000 Ha, siendo China y La India los países con mayor superficie, con unas 100.00 Ha cada uno. La producción mundial de plantas ornamentales y flores es de unos 25. 500 millones de euros y se estima que hay más de 150.000 empresas involucradas en el negocio. En Europa, la horticultura ornamental tiene una gran relevancia, con una superficie de cultivo estimada de 210.000 Ha en los países de la U-27, siendo Holanda, Italia, Alemania, Polonia, Francia y España los países con mayor producción.

Los virus son causantes de importantes pérdidas en la producción y en la calidad de plantas ornamentales y flores. Sin embargo, algunos virus son beneficiosos ya que inducen síntomas que aumentan el valor del producto en el mercado. El más conocido es el síntoma de variegado floral producido por el potivirus del variegado del tulipán (*Tulip breaking virus*, TBV) que provocó un aumento espectacular del valor de los bulbos infectados con el virus a principios del siglo XVII (Brandes y Wetter, 1959). Otros ejemplos de virus beneficiosos cuyos síntomas hacen aumentar el valor del producto son el geminivirus del enrollamiento foliar del tabaco (*Tobacco leaf curl virus*, TLCV) o el capillovirus de las acanaladuras de la madera de la *Nandina domestica* (*Nandina stem-pitting virus*, NSPV) (Ahmed, Christie y Zettler, 1983, Shimizu y Ikegami, 1999).

Los virus son organismos extremadamente simples, compuestos generalmente de una o varias moléculas de ácido nucleico (ADN o ARN) que constituye el genoma viral y está protegido por una cubierta de subunidades proteicas que forman los capsómeros. En algunos casos (muy pocos en el caso de virus vegetales), la cubierta proteica y el genoma están recubiertos a su vez por una estructura lipídica derivada de la membrana celular. Todo este conjunto forma el *virión* o *partícula viral*, que solo es visible con el microscopio electrónico. Los virus son parásitos obligados ya que necesitan de la maquinaria bioquímica de la célula para realizar sus funciones vitales (multiplicación y movimiento). La transmisión de los virus de una planta a otra se realiza mediante contacto directo a través de heridas producidas por herramientas o por manipulación sin haber llevado a cabo una correcta desinfección. También se pueden transmitir a través de organismos vectores (insectos, nematodos, hongos, etc.) y mediante semillas producidas a partir de plantas infectadas. Muchos de los virus de plantas que producen importantes pérdidas económicas se transmiten mediante insectos. El modo de transmisión puede ser no persistente, semi-persistente o persistente (Gray y Banerjee, 1999). En la transmisión no persistente, el virus queda retenido en el estilete del insecto, por lo que éste es solo infectivo durante unos minutos. En la transmisión semi-persistente, el virus llega al intestino y en la transmisión persistente el virus pasa del intestino a la hemolinfa y de ahí a las glándulas salivares. En la transmisión semi-persistente, el insecto es infectivo hasta un máximo de dos días mientras que en la transmisión persistente, el insecto es infectivo durante toda su vida a partir del momento de la adquisición del virus. El modo de transmisión es un factor muy importante en la epidemiología del virus y para tomar las medidas adecuadas de control de la enfermedad.

Se han identificado al menos 125 especies de virus que infectan cultivos ornamentales. Estos son la causa de una disminución de la producción que va desde el 10% en los casos más leves hasta la totalidad de la misma, en los más graves (Brunt et al., 1996). Muchos de estos virus también infectan cultivos hortícolas muy importantes

como tomate (*Solanum lycopersicum*), pimiento (*Capsicum annum*) y varias especies de cucurbitáceas. También pueden infectar cultivos de árboles frutales como melocotón (*Prunus persica*), manzana (*Malus domestica*) y pera (*Pyrus communis*). En estos casos, el control apropiado de los mismos adquiere una especial relevancia. Un primer paso es identificar de manera correcta el agente causal de una enfermedad, así como su forma de transmisión (de Castro, Díez y Nuez, 2007). Tanto las técnicas serológicas (DAS-ELISA) como las moleculares (PCR e hibridación molecular) permiten una detección rápida y fiable de los virus y se usan de manera rutinaria en los diferentes programas de control establecidos por las autoridades sanitarias (Galipienso et al., 2005; Hu et al., 1995). Otro factor muy importante es la aparición de nuevas virosis que están producidas en su mayor parte por el uso y propagación de material vegetal infectado sin el correspondiente certificado fitosanitario o que ha sido emitido de manera incorrecta. Por tanto, y como en este tipo de agricultura es muy dinámico y globalizado, el material ha de estar sometido a los pertinentes programas de certificación con el fin de asegurarse de que está libre de virus. Así mismo, las autoridades fitosanitarias han de establecer programas de cuarentena con el objetivo de prevenir la introducción y la dispersión de enfermedades. Estos programas se basan en la vigilancia y erradicación de las plantas infectadas con el objetivo de impedir o limitar la dispersión de la enfermedad (Jones, 2006).

En este artículo se muestran los virus más importantes que causan enfermedades tanto en cultivos ornamentales como en hortícolas y frutales. También se describen las principales características biológicas de estos virus, como el modo de transmisión, tipos de síntomas que inducen y rango de plantas hospedadoras. Finalmente, se explican las diferentes técnicas que existen para la detección de estos virus así como las estrategias más adecuadas para controlar las enfermedades que producen.

PRINCIPALES VIRUS QUE INFECTAN CULTIVOS ORNAMENTALES Y QUE TAMBIÉN CAUSAN PÉRDIDAS ECONÓMICAS EN CULTIVOS HORTÍCOLAS Y FRUTALES

Hay muchos géneros de virus de plantas que contienen miembros que infectan cultivos ornamentales y agrícolas. El virus del bronceado del tomate (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) es uno de los virus del “top 10” debido a su amplia gama de hospedadores (con unas 800 especies) y a la gravedad de los daños que causa (Scholthof et al., 2011). Este virus pertenece al género *Tospovirus* de la familia *Bunyaviridae* y su genoma está compuesto por tres moléculas de ARN de simple cadena, polaridad positiva y ambisentido (algunos genes se expresan directamente del genoma viral mientras que otros lo hacen a partir de un intermediario de replicación de polaridad negativa) (Adkins, 2000). El virus se transmite de manera persistente por varias especies de insectos denominados trips, siendo las especies más importantes *Frankliniella occidentalis*, *F. shultzei*, *F. fusca* y *Thrips tabaci* (Brunt et al., 1996). La gama de hospedadores de TSWV es muy amplia, incluyendo especies ornamentales como crisantemos (*Chrysanthemum spp.*), Gloxinia (*Gloxinia spp.*), Ciclamen (*Cyclamen persicum*), Begonia (*Begonia spp.*), Impatiens (*Impatiens walleriana*), Gerbera (*Gerbera spp.*) y Cineraria (*Senecio cruentus*) y especies hortícolas muy importantes como el tomate, pimiento y lechuga (*Lactuca spp.*). Los síntomas que induce suelen ser necrosis foliares, bandeados en tallos y flores, muerte de los brotes y malformación en flores (Fig. 1). En tomate y pimiento, TSWV induce la aparición de anillos necróticos y malformación de frutos, que son síntomas característicos de la enfermedad que produce.



Figura 1. Síntomas inducidos por el virus del bronceado del tomate (TSWV) en hojas (panel A) y flores (panel B) de plantas de Gerbera (*Gerbera* spp.)

El virus del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) es otro virus con una gama amplia de hospedadores ya que puede infectar más de 1.000 especies de plantas, de un as 85 familias diferentes, incluyendo cereales, frutales, legumbres y hortícolas (Edwardson y Christie, 1991). CMV pertenece al género *Cucumovirus* de la familia *Bromoviridae*, y tiene un genoma de ARN de simple cadena y polaridad positiva dividido en tres segmentos que se encapsidan de manera independiente. Aunque CMV se puede transmitir mecánicamente a través de herramientas agrícolas y por semilla, generalmente es transmitido de manera no persistente por más de 80 especies de pulgones, principalmente *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*. CMV induce una gran variedad de síntomas, pero en general las plantas infectadas muestran filiformismo, moteado y clorosis en hojas, raquitismo en la planta y distorsión de frutos y flores (Fig. 2) (Divéki et al., 2004). CMV infecta a numerosas especies de plantas dedicadas al cultivo ornamental. Entre ellas se encuentra Alstroemelia (*Alstroemeria* spp.), Anemona (*Anemone coronaria*), Aster de China (*Aster* spp.), Crocus (*Crocus* spp.), Dalia (*Dalia* spp.), Freesia (*Freesia refracta*), Gladiolo (*Galdiolus* spp.), Amaryllis (*Hippeastrum* spp.), Jacinto (*Hyacinthus orientalis*), Lirios (*Iris* spp.), Lila (*Lilium* spp.), Narciso (*Narcissus* spp.), Nerina (*Nerine bowdenii* y *N. sarniensis*), Tulipán (*Tulipa* spp.), Phlox (*Phlox drummondii*), Orquídea (*Dendrobium* spp.), Clavel (*Dianthus caryophyllus*), Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*), Asclepias (*Asclepias syriac* y *A. tuberosa*), Geranio (*Pelargonium* spp.), Impatiens, Hortensia (*Hydrangea macrophylla*), Margarita africana (*Dimorphotheca sinuata*), Calas (*Zantedeschia* spp.), Clavel del poeta (*Dianthus barbatus*), Ciclamen, Equinacea purpurea (*Echinacea purpurea*), Mandevilla (*Mandevilla* ssp.) y Begonia (Loebenstein, Lawson y Brunt, 1995). CMV también infecta algunos arbustos muy utilizados en jardines, carreteras y autopistas como la Adelfa (*Nerium oleander*) y la Flor de mantequilla (*Allamanda cathartica*) en los que induce fuertes síntomas de moteado y manchas cloróticas en hojas (Bertaccini, Vibio y Bellardi, 1996).

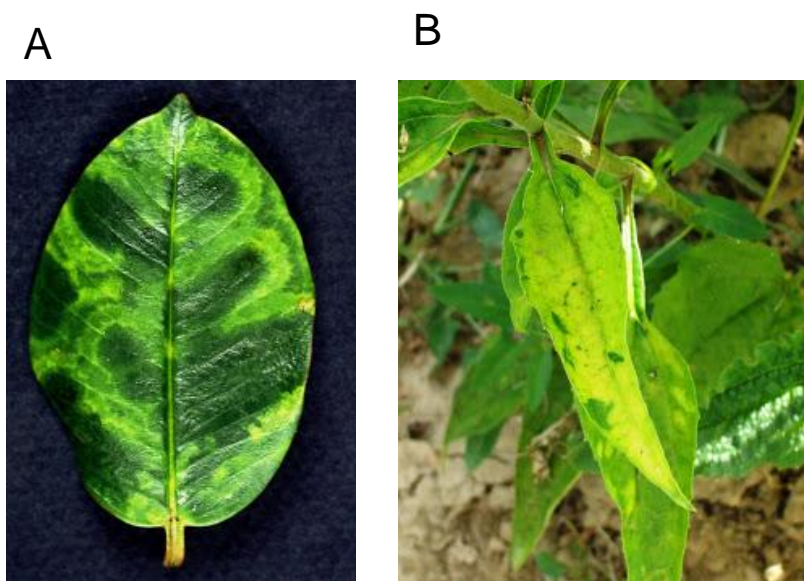


Figura 2. Síntomas inducidos por el virus del mosaico del pepino (CMV) en Hojas de *Mandevilla sanderi* (panel A) y *Echinacea purpurea* (panel B)

El virus del estriado del tabaco (*Tobacco streak virus*, TSV) también pertenece a la familia *Bromoviridae* (género *Ilarvirus*) y está muy extendido por todo el mundo. El virus infecta más de 200 especies de plantas, incluyendo muchas dedicadas al cultivo ornamental. (Brunt et al., 1996), y se transmite por trips, polen y semilla (Klose et al., 1996; Sdoodee, 1989). Este virus induce deformaciones y necrosis en hojas y causa importantes daños en el cultivo del algodón (*Gossypium herbaceum*). Con respecto a cultivos ornamentales, el virus puede infectar a Impatiens, Clemátide (*Clematis vitalba*), Crocus y Dalia. Algunos otros ilarvirus importantes son el virus de los anillos necróticos del género *Prunus* (*Prunus necrotic ringspot virus*, PNRSV) el virus del mosaico del manzano (*Apple mosaic virus*, ApMV) que producen elevados daños en frutales y también infectan diferentes especies del género *Rosa*, como *R. canina*. El virus del mosaico de la alfalfa (*Alfalfa mosaic virus*, AMV) es otro miembro de la familia *Bromoviridae*, aunque es el único miembro del género *Alfavirus*. El modo de transmisión y síntomas que induce son muy similares a los del TSV, y puede infectar plantas dedicadas al cultivo ornamental como Geranio, Petunia (*Petunia hybrida*), Lavanda (*Lavandula spp*), Primula (*Primula spp.*), Durillo (*Viburnum tinus*), *Ajuga reptans*, *Asclepias svriaca* y *V. lucidum* (Fig. 3; Cebrián et al., 2008), *R. indica*, *R. maetti* y *R. multiflora* en los que induce síntomas de mosaico en hojas.

El virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*, TMV) tiene una amplia gama de hospedadores, infectando más de 125 de especies pertenecientes a 9 familias entre las que se encuentra el tabaco (*Nicotiana tabacum*), tomate, pimiento, diversas especies de cucurbitáceas y muchas especies dedicadas al cultivo ornamental. TMV es un virus de ARN de simple cadena y polaridad positiva que pertenece al género *Tobamovirus* de la familia *Virgaviridae* y fue el primer virus en ser purificado, en 1930. TMV se transmite por inoculación mecánica y es muy estable, lo que hace que sea extremadamente difícil de controlar. El virus induce síntomas de mosaico y las características manchas verde clara y oscuras en hojas de Crisantemo, Geranio, Impatien, Kalanchoe (*Kalanchoe spp.*), Tulipán y Rosa.

A



B



Figura 3. Plantas de Lavanda (*Lavandula* spp.) infectadas con el virus del mosaico de la alfalfa (AMV). El panel A muestra las diferencias de crecimiento entre las plantas infectadas (dos macetas de la izquierda) y las sanas (maceta de la derecha) mientras que el panel B muestra los síntomas de mosaico foliar inducidos por el virus

A diferencia de los virus descritos anteriormente, que tenían genomas de ARN de polaridad positiva, o ambisentido, el virus del moteado de la berenjena (*Eggplant mottle dwarf virus*, EMDV) tiene un ARN de simple cadena pero de polaridad negativa, por lo que tiene que generar una hebra de polaridad positiva para poder expresar los productos virales (Dombrovsky et al., 2009). Pertenece al género *Nucleorhabdovirus* de la familia *Rhabdoviridae* y se transmite por insectos de las especies *Anaceratogallia lavéis*, *A. ribanti* y *Agallia vorobjevi* aunque se desconoce el modo de transmisión (Babaie y Izadpanah, 2003). EMDV infecta especies hortícolas como berenjena, tomate, patata y pimiento y ornamentales como *Pittosporum*, Rosa china, Madreselva y geranio. Es el agente causal de la enfermedad de las venas amarillas de la rosa china y del *Pittosporum* (Fig. 4)



Figura 4. Síntomas de variegado en hojas de *Pittosporum tobira* inducidos por el virus del moteado de la berenjena (EMDV)

MÉTODOS DE DETECCIÓN Y ESTRATEGIAS DE CONTROL

El control de las enfermedades producidas por virus se basa en la aplicación de medidas profilácticas para prevenir la infección y limitar su dispersión ya que no existe ningún tratamiento efectivo contra este tipo de enfermedades. En la agricultura ornamental se produce un gran trasiego de material, debido principalmente al elevado

número de importaciones y exportaciones de plantas y de flores, lo que supone un gran riesgo para la dispersión de patógenos. La aplicación de programas de certificación y cuarentena por parte de las autoridades es esencial para prevenir la introducción de virus dañinos y de plagas. Para ello es clave disponer de métodos sensibles para la detección específica de los virus más importantes. Las técnicas de diagnóstico se han basado tradicionalmente en pruebas de infectividad en distintos hospedadores, llamados plantas indicadoras. Este método es muy costoso, lleva mucho tiempo identificar el patógeno y no es adecuado cuando se han de procesar muchas muestras. Actualmente, en los laboratorios de diagnóstico se emplean técnicas serológicas (ELISA) y moleculares (hibridación molecular y PCR) que son mucho más rápidas y baratas que las pruebas biológicas. La técnica ELISA se basa en el uso de anticuerpos que reconocen de manera específica proteínas virales, normalmente las de la cápsida viral y permite analizar un gran número de muestras (Hu et al., 1995). Las técnicas moleculares se basan en la detección de los ácidos nucleicos del virus y hay dos tipos: la hibridación molecular y la PCR. En la primera se usan secuencias de nucleótidos complementarias al virus que se quiere detectar marcadas con radioactividad u otras moléculas, como la digoxigenina. La hibridación molecular se puede usar para detectar simultáneamente diferentes virus usando o bien una mezcla de sondas, o una única sonda, llamada polisonda, que contiene fragmentos de secuencias de los diferentes virus (Aparicio et al., 2009; Saldarelli et al., 1996). Esta técnica también permite, en algunos casos, detectar directamente el virus a partir de impresiones de tejido infectado en membranas de nylon, que se pueden preparar en las parcelas o invernaderos, sin necesidad de procesar la muestra (Fig. 5; Galipienso et al., 2005). Mediante PCR se produce la amplificación exponencial de fragmentos de DNA, por lo que a partir de pocas copias de una molécula se obtienen millones, que se pueden visualizar mediante electroforesis y tinciones adecuadas. Para amplificar virus con genomas de ARN, se necesita realizar previamente a la PCR una reacción de retrotranscripción para pasar la molécula de ARN a ADN (RT-PCR). La técnica de PCR es muy sensible, sin embargo tiene la desventaja de que con cierta frecuencia se obtienen falsos positivos debidos a contaminaciones de los ADNs amplificados. También se puede dar la situación opuesta, la obtención de falso negativos, debidos a fallos en los procesos de amplificación por inhibición de los enzimas empleados, que son muy sensibles a determinados productos de la planta obtenidos en el proceso de extracción.

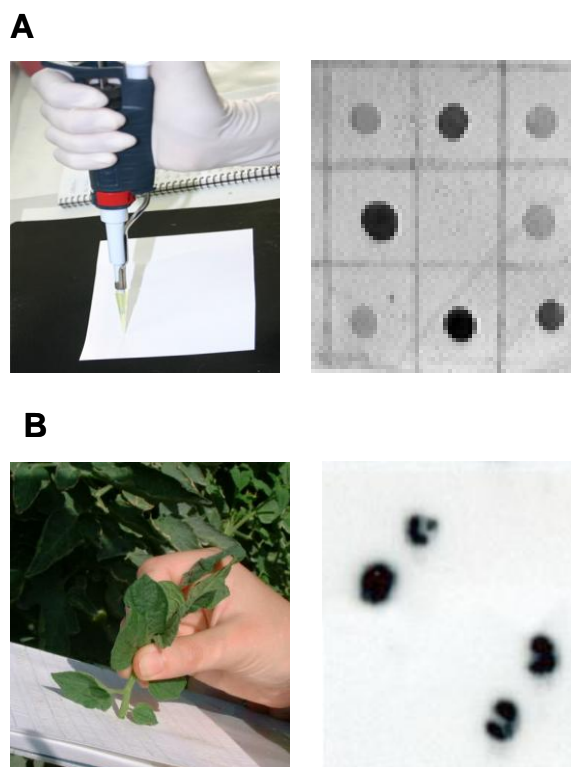


Figura 5. Detección de virus mediante hibridación molecular empleando extractos de ácidos nucleicos obtenidos a partir de plantas infectadas (panel A) o impresiones de tejido (panel B). El material se aplica en membranas de nylon que luego se hibrida con las correspondientes sondas marcadas con digoxigenina. Las señales de hibridación se visualizan en películas fotográficas o mediante cámaras especiales.

CONCLUSIONES

El control de las enfermedades producidas por virus no es sencillo, debido a la complicada naturaleza de su epidemiología, con frecuentes casos de emergencia de nuevas enfermedades y re-emergencia de enfermedades ya existentes. En el caso de la agricultura ornamental, la situación se complica debido al elevado trasiego de materia. Por tanto, es fundamental llevar a cabo un programa de control integrado que incluya certificación de material libre de virus, control de su distribución, uso de plantas resistentes, erradicación de focos de infección, control de insectos vectores, etc. Todo ello solo puede ser llevado a cabo si existen métodos adecuados de detección de patógenos. La aplicación de técnicas moleculares en el diagnóstico de virus ha facilitado el proceso, ya que estas técnicas permiten una detección rápida y fiable de muchos patógenos.

Referencias

- Adkins, S. (2000). *Tomato spotted wilt virus*-positive steps towards negative success. *Molecular plant pathology*, 1,151-157.
- Ahmed, N., Christie S., Zettler, F. (1983). Identification and partial characterization of a closterovirus infecting *Nandina domestica*. *Phytopathology*, 73, 470-475.
- Aparicio, F., Soler, S., Aramburu, J., Galipienso, L., Nuez, F., Pallas V., Lopez C. (2009). Simultaneous detection of six RNA plant viruses affecting tomato crops using a single digoxigenin-labelled polyprobe. *European Journal of Plant Pathology*, 123,117-123.

- Babaie, G., Izadpanah, K. (2003). Vector transmission of *Eggplant mottled dwarf virus* in Iran. *Journal of Phytopathology*, 151,679-682.
- Bertaccini, A., Vibio, M., Bellardi, M. (1996). Virus diseases of ornamental shrubs. X. *Euphorbia pulcherrima* Willd. infected by viruses and phytoplasmas. *Phytopathologia Mediterranea*, 35,129-132.
- Brandes, J., Wetter, C. (1959). Classification of elongated plant viruses on the basis of particle morphology. *Virology*, 8,99-115.
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M., Gibbs, A., Watson, L. (1996). Viruses of plants. Descriptions and lists from the VIDE (Virus Identification Data Exchange) database. Ed: Brunt, A. A.;Crabtree, K.;Dallwitz, M. J.;Gibbs, A. J.;Watson, L. pp.1484
- Cebrián, M., Córdoba-Sellés, M., Alfaro-Fernández, A., Herrera-Vásquez, J., Jordá, C. (2008). First Report of *Alfalfa mosaic virus* in *Viburnum lucidum* in Spain. *Plant Disease*, 92,1132-1132.
- de Castro, A.P., Díez, M.J., Nuez, F. (2007). Inheritance of *Tomato yellow leaf curl virus* resistance derived from *Solanum pimpinellifolium* UPV16991. *Plant Disease*, 91,879-885.
- Divéki, Z., Salánki, K., Balázs, E., (2004). The necrotic pathotype of the *Cucumber mosaic virus* (CMV) Ns strain is solely determined by amino acid 461 of the 1a protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17,837-845.
- Dombrovsky, A., Pearlsman, M., Lachman, O., Antignus, Y. (2009). Characterization of a new strain of *Eggplant mottled crinkle virus* (EMCV) infecting eggplants in Israel. *Phytoparasitica*, 37,477-483.
- Edwardson, J.R., Christie, R.G. (1991). *CRC Handbook of viruses infecting legumes*. CRC.
- Galipienso, L., Herranz, M., Pallás ,V., Aramburu, J. (2005). Detection of a tomato strain of *Parietaria mottle virus* (PMoV - T) by molecular hybridization and RT - PCR in field samples from north - eastern Spain. *Plant Pathology*, 54, 29-35.
- Gray, S.M., Banerjee, N. (1999). Mechanisms of arthropod transmission of plant and animal viruses. *Microbiology and molecular biology reviews*, 63, 128-148.
- Hu, J., Li, H., Barry, K., Wang, M., Jordan, R. (1995). Comparison of dot blot, ELISA, and RT-PCR assays for detection of two *Cucumber mosaic virus* isolates infecting banana in Hawaii. *Plant Disease*, 79, 902-906.
- Jones, R.A.C. (2006). Control of plant virus diseases. *Advances in Virus Research*, 67, 205-244.
- Klose, M., Sdoodee, R., Teakle, D., Milne, J., Greber, R., Walter, G. (1996). Transmission of three strains of tobacco streak ilarvirus by different thrips species using virus - infected pollen. *Journal of Phytopathology*, 144, 281-284.
- Loebenstein, G., Lawson, R.H., Brunt, A.A. (1995). *Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops*. John Wiley & Sons.
- Saldarelli, P., Barbarossa, L., Grieco, F., Gallitelli, D. (1996). Digoxigenin-labeled riboprobes applied to phytosanitary certification of tomato in Italy. *Plant Disease*,80 ,1343-1346.
- Scholthof K.G., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P. (2011). Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 12, 938-954.
- Sdoodee, R. (1989). *Biological and physicochemical properties of Tobacco streak virus*. Tesis doctoral, School of Molecular and Microbial Sciences, The University of Queensland, EEUU.

Shimizu, S., Ikegami, M. (1999). Complete nucleotide sequence and the genome organization of tobacco leaf curl geminivirus from Japan. *Microbiology and immunology*, 43, 989-992.