

Virosis en el cultivo del tabaco

Enny Ganchozo-Mendoza¹, Francisco J. Flores^{2,3}; Felipe R. Garcés-Fiallos^{4*}

¹ Instituto de Posgrado, Maestría en Sanidad Vegetal, Universidad Técnica de Manabí. Código Postal 130105, Portoviejo, Manabí, Ecuador.

² Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sangolquí 170501, Ecuador.

³ Centro de Investigación de Alimentos, CIAL, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Universidad UTE, Quito, Ecuador.

⁴ Laboratorio de Fitopatología, Campus Experimental La Teodomira, Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Manabí, Santa Ana EC 131301, Ecuador.

*Corresponding author: Email: felipe.garces@utm.edu.ec Mobile: +593 939929958

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.04.30>

RESUMEN

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) es un cultivo industrial de importancia económica y una planta modelo importante, cultivada ampliamente en muchos países. Su producción, rendimiento y calidad se han visto gravemente afectados por una serie de factores entre los que destacan las infecciones virales. Hasta el momento se han reportado más de 60 virus pertenecientes a 20 géneros que infectan y provocan pérdidas sustanciales de rendimiento en tabaco. Los genomas de estos fitopatógenos pueden ser de ADN o ARN, distribuyéndose en varias partículas virales (monopartito, bipartito o tripartito). En su gran mayoría, las infecciones virales en tabaco son ocasionadas por virus de ARN monocatenarios de sentido positivo (ARN+) como los pertenecientes al género Tobamovirus y Cucumovirus. No obstante, los Begomovirus (virus de ADN) también impactan económicamente el cultivo de tabaco. Esta revisión enlista los principales virus de ADN y ARN que infectan plantas de tabaco, así como sus vectores más relevantes. Además, se abordan las técnicas de detección y diagnóstico que se han desarrollado continuamente para identificar correctamente las enfermedades virales asociadas al cultivo de tabaco.

Palabras clave: *Nicotiana tabacum* L., virus de plantas, incidencia de virus, detección y diagnóstico viral

ABSTRACT

Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) is an economically significant industrial crop and an important model plant, widely grown in many countries. Its production, yield and quality have been severely impacted by a series of factors, with viral infections being prominent among them. To date, more than 60 viruses from 20 genera have been reported to infect and cause substantial yield losses in tobacco. The genomes of these phytopathogens can be either DNA or RNA, distributed in various viral particles (monopartite, bi-partite or tripartite). Predominantly, viral infections in tobacco are caused by single-stranded positive-sense RNA viruses (+RNA), such as those belonging to the Tobamovirus and Cucumovirus genera. However, Begomoviruses (DNA viruses) also economically impact the tobacco crops. This review lists the major DNA and RNA viruses infecting tobacco plants, along with their most relevant vectors. Additionally, it outlines the continuously developed detection and diagnostic techniques continuously essential for accurately identifying viral diseases associated with tobacco cultivation.

Key words: *Nicotiana tabacum* L., plant viruses, virus incidence, virus detection and diagnosis.

INTRODUCCION

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) es una especie endémica de América del Sur perteneciente a la familia Solanaceae, cultivada en todo el mundo ¹. Desde el punto de vista económico, es la especie más importante del género *Nicotiana*, existiendo aproximadamente 152 variedades cultivadas ^{2,3}. Esta solanácea es atacada por un sinnúmero de fitopatógenos que afectan principalmente el área foliar, destacándose los virus. Estos agentes infecciosos son económicamente importantes y el manejo de sus enfermedades es crucial para la producción agrícola ⁴⁻⁶.

Un gran número de virus pueden infectar plantas de tabaco ya sea de forma natural o experimental. Estos agentes infecciosos están distribuidos mundialmente, reduciendo el rendimiento y calidad del cultivo, representando un factor económico importante para los tabacaleros ⁴⁻⁶. Los síntomas característicos asociados a virosis en tabaco son muy variados *i.e.* manchas anulares cloróticas y necróticas, mosaico, enanismo, moteado, estriado, arrugamiento, deformaciones, entre otros ⁷⁻¹⁰. Es esencial realizar una identificación temprana de los virus en las plantas de tabaco con el fin de minimizar los daños y pérdidas asociadas.

Entre los virus más importantes del tabaco se incluyen a Tobamovirus (como *Tobacco mosaic virus* – TMV) que es considerado uno de los agentes virales de mayor importancia económica, seguido de Cucumovirus (*Cucumber mosaic virus* – CMV), Potyvirus (*Potato virus Y* – PVY; *Tobacco vein mottling virus* – TVMV y *Tobacco etch virus* -TEV), Begomovirus (*Tobacco leaf curl virus* -TLCV), y Tospovirus (*Tomato spotted wilt orthotospovirus* – TSWV), que afectan la producción y el rendimiento de las hojas de tabaco en muchas plantaciones a nivel mundial ¹¹⁻¹⁵. Dado que los síntomas de las virosis se manifiestan en gran medida en las hojas, que constituyen el producto principal del cultivo de tabaco, resulta crucial recopilar y sintetizar el conocimiento disponible acerca de estas enfermedades virales. En este sentido, se ha llevado a cabo una revisión actualizada de los virus que afectan al cultivo de tabaco, su incidencia y daños producidos, su relación con los vectores más relevantes, así como las técnicas actuales para su detección e identificación.

Virus que afectan plantas de tabaco

El tabaco es una de las solanáceas más susceptibles a las infecciones virales, con más de 20 géneros de virus con capacidad de infectarlo de forma natural. Además, se ha demostrado experimentalmente que las plantas de tabaco pueden ser infectadas por más de un centenar de especies virales ¹⁶. Se han documentado casos de infecciones mixtas en las que coexisten dentro del mismo hospedero más de una especie o variantes genéticamente distintas de la misma especie. Los virus involucrados pueden interactuar entre sí, dando lugar a fenómenos de sinergismo, neutralismo o antagonismo ^{17,18}.

Los virus pueden presentar genomas de ADN o ARN, los cuales pueden estar contenidos en una sola o distribuidos en varias partículas virales (monopartito, bipartito o tripartito) ¹⁹. Las infecciones en plantas de tabaco en su mayoría son ocasionadas por virus de ARN monocatenarios de sentido positivo (ARN +) ²⁰. No obstante, hay un grupo importante de virus de ADN como los Begomovirus, que causan un impacto económico al cultivo. En la Tabla 1 se presentan algunas de las especies virales que infectan plantas de tabaco, así como sus vectores asociados.

Genero viral	Genoma	Vector/forma de diseminación	Referencia
Especie de virus			
Alfamovirus	(+)ssRNA		
AMV - <i>Alfalfa mosaic virus</i>		Semillas Áfidos (<i>Aphis gossypii</i> ; <i>Myzus persicae</i>)	21-23
Alphanecrovirus	(+)ssRNA		
TNV-A - <i>Tobacco necrosis virus</i>		Hongo (<i>Olpidium brassicae</i>)	24,25

Betanecrovirus	(+)ssRNA		
TNV-D - Tobacco necrosis virus D		Hongo (<i>O. brassicae</i>)	25
Alphanucleorhabdovirus	(-)ssRNA		
EMDV - Eggplant mottled dwarf nucleorhabdovirus		Saltahojas (<i>Agallia vorobjevi</i>)	26
Begomovirus	ssDNA		
HYVMV - Honeysuckle yellow vein mosaic virus RhGMV - Rhynchosia golden mosaic virus TbCSV - Tobacco curly shoot virus TbLCuCUV- Tobacco leaf curl Cuba virus TbLCJV- Tobacco leaf curl Japan virus TbLCYnV- Tobacco leaf curl Yunnan virus TbLCZV- Tobacco leaf curl Zimbabwe virus TYLCCNV- Tomato yellow leaf curl China virus TbASV -Tobacco apical stunt virus TbLCIV - Tobacco leaf curl India virus TbLRV- Tobacco leaf rugose virus TbYCV- Tobacco yellow crinkle virus TbMoLCV- Tobacco mottle leaf curl virus ChiLCV - Chili leaf curl virus CLCuMV-Hib- Cotton leaf curl Multan virus-[Hibiscus]		Mosca blanca (principal vector) (<i>Bemisia tabaci</i>)	27
Carlavirus	(+)ssRNA		
PotLV - Potato latent virus		Áfido (<i>M. persicae</i>)	28–30
Closterovirus	(+)ssRNA		
TV1 - Tobacco virus1*		Desconocido	31,32
Crinivirus	(+)ssRNA		
ToCV- Tomato chlorosis virus		Mosca blanca (<i>B. tabaci</i>)	33
Cucumovirus	(+)ssRNA		
TICV - Tomato infectious chlorosis virus – en Nicotiana glauca		Mosca blanca de los invernaderos (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)	34
CMV - Cucumber mosaic virus		Áfido (<i>M. persicae</i>)	35,36
PSV- Peanut stunt virus		Áfido (<i>M. persicae</i>)	37–39
Iarvirus	(+)ssRNA		
TSV - Tobacco streak virus		Trips	40,41

		(<i>Frankliniella schultzei</i> ; <i>Megalurothrips usitatus</i> ; <i>Microcephalothrips abdominalis</i> ; <i>Scirtothrips dorsalis</i> ; <i>Thrips palmi</i> ; <i>T. tabaci</i>) Polen Semilla Contacto	
Mastrevirus	ssDNA		
TbYDV - Tobacco yellow dwarf virus		Salta hojas (<i>Orosius orientalis</i> y <i>Thamnotettix argentata</i>)	42,43
Nepovirus	(+)ssRNA		
AYRSV - Artichoke yellow ringspot virus		Semillas	44,45
TBRV - Tomato black ring virus		Semillas Nematodos (<i>Longidorus elongatus</i> y <i>L. attenuatus</i>)	46,47
ToRSV - Tomato ringspot virus		Nematodos (<i>Longidorus</i> spp.; <i>Xiphinema</i> spp.) Polen Propagación vegetativa Semillas	48
TRSV - Tobacco ringspot virus		Nematodo (<i>X. americanum</i>) Áfidos (<i>A. glycines</i> ; <i>A. gossypii</i> ; <i>M. persicae</i>) Saltahojas (<i>Melanopus</i> sp.) Escarabajo (<i>Epitrix hirtipennis</i>) Trips (<i>T. tabaci</i>) Ácaro (<i>Tetranychus</i> sp.) Polen Semillas	49–51
Orthospovirus	(+/-)ssRNA		
TSWV - Tomato spotted wilt orthospovirus		Trips (<i>F. fusca</i> ; <i>F. occidentalis</i>)	14
TZSV - Tomato zonate spot virus		Trips (<i>F. occidentalis</i>)	52,53
CCSV - Calla lily chlorotic spot virus		Trips (<i>T. palmi</i>)	54
INSV - Impatiens necrotic spot orthospovirus		Trips (<i>F. intonsa</i> ; <i>F. occidentalis</i>)	55,56
TYRV - Tomato yellow ring virus		Trips (<i>F. occidentalis</i>)	57
TPV1 - Tobacco polerovirus 1 * TPV2 - Tobacco polerovirus 2 *		Áfido (<i>M. persicae</i>)	58,59

TVDV - Tobacco vein distorting virus		Áfido (<i>M. persicae</i>)	59,60
BrYV - Brassica Yellows Virus		Áfido (<i>M. persicae</i>)	61–63
TuYV - Turnip yellows virus		Áfido (<i>M. persicae</i>)	64,65
PepMV - Pepino mosaic virus		Contacto Semillas Polen Mosca blanca (<i>T. vaporariorum</i>) Hongo (<i>O. virulentus</i>) Abejorros (<i>B. canariensis</i> ; <i>Bombus impatiens</i> ; <i>B. terrestris</i>) Chinche (<i>Macrolophus caliginosus</i>)	66–69
PVX - Potato virus X		Contacto	70–72
Potyvirus	(+)ssRNA		
ChiVMV - Chilli veinal mottle virus		Áfidos: (<i>A. gossypii</i>)	73
PVA - Potato virus A		Contacto Áfidos (<i>A. frangulae</i> ; <i>Aphis nasturtii</i> ; <i>Brachycaudus helichrysi</i> ; <i>Macrosiphum euphorbiae</i> ; <i>M. persicae</i> ; <i>Neomyzus circumflexum</i> ; <i>Rhopalosiphum padi</i>)	74–76
PVMV - Pepper veinal mottle virus		Áfidos (<i>A. craccivora</i> ; <i>A. fabae</i> ; <i>A. gossypii</i> ; <i>A. spiraecola</i> ; <i>Hystero-neura setariae</i> ; <i>M. persicae</i> ; <i>Rhodolophium</i> spp.)	77–80
PVY - Potato virus Y		Áfidos (<i>Acyrtosiphon</i> spp.; <i>Amphorophora agathonica</i> ; <i>Anoecia</i> spp.; <i>Aulacorthum solani</i> ; <i>B. rumexicolens</i> ; <i>Calaphis betulaecolens</i> ; <i>Capitophorus</i> spp.; <i>Cavariella theobaldi</i> ; <i>Cepigillettea betulaefoliae</i> ; <i>Chaitophorus</i> spp.; <i>Cinara</i> spp.; <i>Cryptomyzus galeopsideis</i> ; <i>Drepanaphis carolinensis</i> ; <i>Eriosoma americanum</i> ; <i>Euceraaphis</i> spp.; <i>Hayhurstia atriplicis</i> ; <i>Hyperomyzus lactucae</i> ; <i>Illinoia rubicola</i> ; <i>Izyphia</i> sp.; <i>Lipaphis pseudobrassicae</i> ; <i>Macrosiphoniella</i> sp.; <i>Macrosiphum</i> spp.; <i>Metopolophium</i> spp.; <i>Nasonovia ribisnigri</i> ; <i>Nearctaphis bakeri</i> ;	81–85

		<i>Pemphigus</i> sp.; <i>Periphyllus ne-gundinis</i> ; <i>Phyllaphis fagi</i> ; <i>Pterocomma</i> sp.; <i>Rhopalosiphoninus</i> spp.; <i>Schizolachnus</i> sp.; <i>Sipha elegans</i> ; <i>Tetraneura</i> sp.; <i>The-rioaphis trifolii</i> ; entre otros)	
TEV -Tobacco etch virus		Áfidos (<i>A. glycines</i> ; <i>M. persicae</i>)	51,86–88
TVBMV -Tobacco vein banding mosaic virus		Áfidos (<i>A. gossypii</i> ; <i>M. persicae</i>)	89–91
TVMV - Tobacco vein mottling virus		Áfidos (<i>A. glycines</i> ; <i>M. persicae</i>)	51,92,93
TMosqV – Tobacco mosqueado virus		Áfidos (especies no especificadas)	94
Solendovirus	dsDNA		
TVCV - Tobacco vein clearing virus		Semillas	95
Tobamovirus	(+)ssRNA		
TMGMV - Tobacco mild green mosaic virus		Contacto	96
TMV - Tobacco mosaic virus		Semillas Contacto	97–99
NgTLV - Nigerian tobacco latent virus		No reportado	100
Tobravirus	(+)ssRNA		
TRV -Tobacco rattle virus		Principalmente por nematodos (<i>Paratrichodorus</i> spp.; <i>Paratrichodorus allius</i> ; <i>T. spp.</i> ; <i>Trichodorus primitivus</i>) Malezas	101–104
Tymovirus	(+)ssRNA		
EMV - Eggplant mosaic virus		Escarabajos (<i>Diabrotica speciosa</i> ; <i>Epitrix</i> spp.)	105
ToBMV -Tomato blistering mosaic virus		No reportado	106
Umbravirus	(+)ssRNA		
TBTV - Tobacco bushy top virus		Mecánica El áfido <i>M. persicae</i> puede transmitir TBTV solo a partir de plantas coinfectadas por TVDV, actuando como virus auxiliar y encapsidando el ARN genómico de TBTV	58–60
TMoV - Tobacco mottle virus		Los áfidos <i>Aulacorthum solani</i> y <i>M. persicae</i> transmiten TMoV a partir de plantas coinfectadas con TVDV	107
Nanovirus	(+)ssDNA		
MDV -Milk vetch dwarf virus		Áfido (<i>A. craccivora</i>)	108,109

* Nombre científico tentativo

Tabla 1. Virus y sus vectores identificados y reportados en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.)

Principales síntomas asociados a virus en tabaco

Las infecciones por virus pueden causar diversos síntomas en las plantas de tabaco, como atrofia, patrones de mosaico, amarillamiento, hojas enrolladas, manchas anulares, necrosis, marchitamiento y otras anomalías durante su desarrollo ¹¹⁰. TMV es uno de los virus más comunes e importantes en *N. tabacum*, presentando diferentes síntomas *i.e.* clorosis, oscurecimiento de nervaduras en hojas, moteado, manchas, mosaicos y retraso en el crecimiento ^{111–114}. Por otro lado, plantas de tabaco infectadas con el Begomovirus CMV generalmente muestran clorosis, mosaicos, necrosis, enanismo, retraso en el crecimiento y malformación foliar. La expresión cualitativa de estos síntomas en plantas de tabaco depende de la cepa de CMV ^{115–117}. Algo parecido sucede con los síntomas presentados por TEV, asociados principalmente a clorosis, deformación y reducción del crecimiento ¹¹⁸.

Otros virus como el Potyvirus PVY induce síntomas en plantas de tabaco que también dependen del tipo de cepa viral, como necrosis en las venas de hojas, clorosis, ocasionalmente también una distorsión foliar y necrosis en tallos asociados a PVYN, y moteado y mosaico causados por PVYO ^{119–121}. PVA, es otro Potyvirus que afecta tabaco y causa moteado difuso muy leve y aclaramiento de venas en hojas ⁷⁴. Finalmente, Alfamovirus como AMV induce en plantas de tabaco puntos cloróticos y manchas en hojas, pudiendo estos tejidos presentar venas pálidas, anillos blanquecinos y patrones de líneas de tejido necrótico, y deformación, e incluso a veces mostrar un patrón de mosaico brillante ¹²².

Las infecciones mixtas de dos o más virus no relacionados es un fenómeno frecuente en la naturaleza. Esta sinergia a menudo se manifiesta por un aumento notable tanto en la expresión de síntomas como en la acumulación de virus, en comparación con una sola infección. Una de estas interacciones es la de PVY con el Potyvirus PVX en tabaco, la cual puede producir desde amarillamiento en hojas hasta una necrosis severa ^{123,124}. Otro ejemplo, es la coinfección viral entre TMV y CMV; la aparición de síntomas es más temprana y grave que la monoinfección en plantas de tabaco ¹²⁵. En la Figura 1 se pueden observar algunos de los síntomas virales encontrados en plantas comerciales de tabaco.

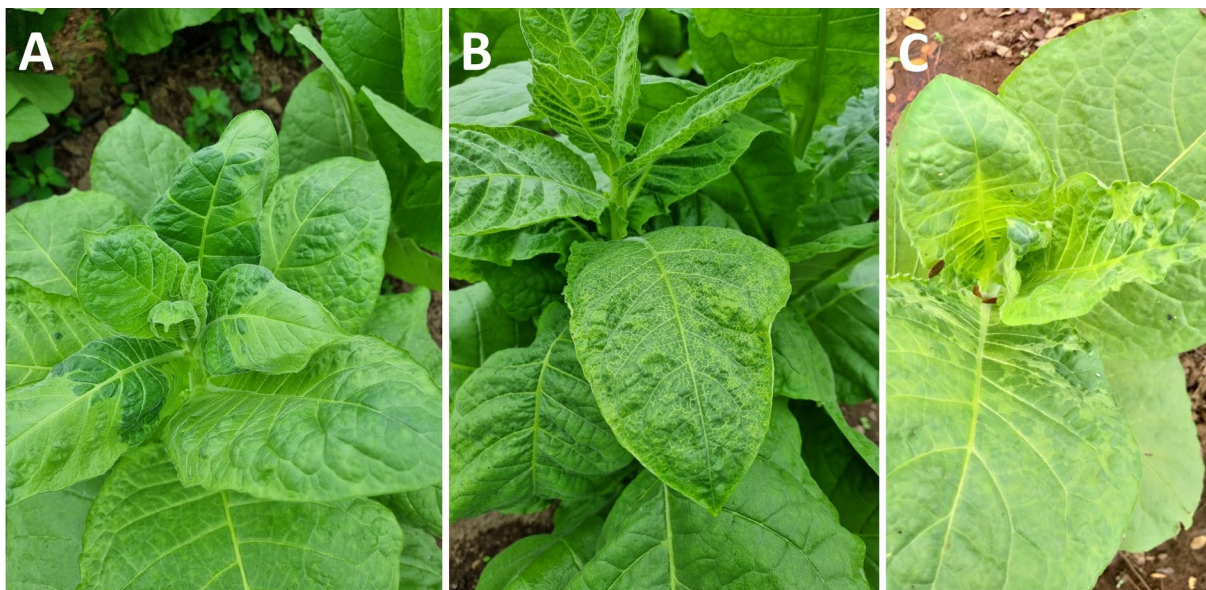


Figura 1. Plantas de tabaco con síntomas virales aparentes: (A) Mosaico y malformaciones en hojas jóvenes, (B) aclaramiento de nervaduras en hojas y reducción foliar, y (C) patrón de mosaico y reducción de crecimiento en hojas jóvenes.

Transmisión de virus en plantas de tabaco

El tabaco al igual que la mayoría de las plantas, adquieren virus a través de vectores que transmiten las partículas virales desde una planta huésped infectada. Generalmente, estos vectores son artrópodos, insectos perforadores-chupadores fitófagos (pulgones, salta hojas, moscas blancas, trips, etc.), pero también escarabajos, ácaros, nematodos, plantas parásitas, malezas, hongos y protistas. Sin embargo, la transmisión viral en tabaco también puede ocurrir por contacto mecánico, semilla botánica (sexual) y polen^{99,126–131}. Los vectores pueden transmitir virus de manera persistente, semipersistente y no persistente. Esta clasificación está dada por la localización del virus en el vector, tiempo requerido por el vector para la adquisición del virus, retención y transmisión del virus, y asociación del virus con varios órganos internos del vector^{92,131}. Además, se han identificado proteínas codificadas por diferentes virus de plantas para interactuar específicamente con sus respectivos vectores (generalmente insectos) para facilitar la transmisión de virus¹³².

En el modo no persistente, los insectos vectores retienen los virus en sus estiletes. En el modo semipersistente, los virus se transportan a los intestinos anteriores o a las glándulas salivales del vector, pero no pueden propagarse de los intestinos a las glándulas salivales o ingresar a la hemolinfa. En el modo persistente, los virus se retienen en los intestinos del vector y pueden propagarse a las glándulas salivales. En los modos no persistente y semipersistente, los virus se retienen por un corto tiempo. Contrariamente, en el modo persistente los virus son retenidos por un tiempo relativamente largo y se los pueden encontrar en la hemolinfa de los vectores¹²⁸. Los insectos, especialmente áfidos y moscas blancas son los principales vectores de virus que infectan plantas de tabaco, representando más del 50% de todos los transmisores de fitovirus¹³³. Estos vectores utilizan diversos mecanismos de transmisión, por ejemplo, los Begomovirus son transmitidos de manera persistente por moscas blancas, mientras que los Closterovirus son transmitidos por áfidos de forma semipersistente. Aunque otros virus como los Potyvirus cuentan con numerosas especies transmitidas de forma no persistente por pulgones, estos también pueden ser transmitidos por semillas e inoculación mecánica. Por otra parte, los Tobamovirus no se transmiten a través de vectores, pero pueden propagarse mediante el contacto entre plantas y, en ocasiones, a través de semillas^{19,127}.

Género viral	Principal vector	Modo de transmisión	Referencia
Alfamovirus	Áfidos	No persistente	127
Alphanecrovirus	Hongo (<i>Olpidium brassicae</i>)	Persistente	131
Betanecrovirus	Hongo (<i>O. brassicae</i>)	Persistente	131
Alphanucleorhabdovirus	Saltahojas	Persistente	134
Begomovirus	Moscas blancas	Persistente-No propagativo	127
Carlavirus	Áfidos	No persistente	135
Closterovirus	Áfidos y cochinillas	Semipersistente	135
Crinivirus	Moscas blancas	Semi-persistentes	136
Cucumovirus	Áfidos	No persistente	133
Iilarvirus	Trips	Persistente	137
Mastrevirus	Saltahojas	Persistente-No propagativo	42
Nepovirus	Nematodos	No persistente	138
Orthotospovirus	Trips	Persistente-Propagativo	139
Potyvirus	Áfidos	No persistente	92
Tobravirus	Nematodos	Semipersistente	102
Tymovirus	Escarabajos	Semipersistentes	31
Umbravirus	Áfidos	No persistente	31
Nanovirus	Áfidos	Persistente	135

Tabla 2. Géneros virales que infectan plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y son transmitidos por vectores y de otras maneras

Incidencia viral en plantas de tabaco

Se han realizado varios estudios sobre la incidencia y distribución de virus en plantaciones de tabaco como primer paso hacia la búsqueda de estrategias de manejo. En Turquía, mediante el método serológico DAS-ELISA (double-antibody sandwich enzyme-linked immunoabsorbent assay) se encontró una tasa de infección del 61,5% para TSWV¹⁴⁰ en hojas de tabaco. En el mismo país, se han reportado incidencias de 8,8, 5,5 y 0,2% correspondientes a CMV, TMV e infecciones mixtas TMV + CMV, respectivamente¹⁴¹. En Asia, específicamente en China, usando técnicas moleculares encontraron una incidencia entre 0,5 y 3% para ChiVMV en muestras provenientes de un cultivo comercial de tabaco¹⁴².

Es importante destacar la importancia que tiene el uso de métodos de detección o identificación de virus en plantas de tabaco. Por ejemplo, en Irán se encontró una incidencia de 79% atribuida inicialmente a la infección con TSV con base en la sintomatología observada en diferentes cultivares. Sin embargo, los análisis moleculares subsiguientes revelaron que prácticamente ninguna de las muestras albergaba una única infección de TSV. Más bien, se constató que estaban afectadas por coinfecciones de uno o varios virus, entre ellos TSWV, CMV, PVY y TMV¹⁴³. En Serbia, de un total de 26 muestras foliares de tabaco comercial y analizadas mediante técnicas serológicas y moleculares, se encontró que 25 fueron positivas para TSWV¹⁴⁴. La incidencia de las infecciones virales depende de diferentes factores como del cultivar usado, la edad de las plantas, prácticas de manejo, entre otros componentes. Al respecto, en varias áreas geográficas de Grecia se estudiaron tres cultivares de tabaco, encontrándose una incidencia viral entre 0,4 y 80 % en plántulas establecidas en semilleros de hasta el 100 % en plantas en condiciones de campo¹⁴⁵.

Aunque el uso de técnicas serológicas o moleculares son importantes en la identificación de virus en plantas de tabaco, la cuantificación de virosis en condiciones de campo también es muy importante. En El Empalme, Ecuador, evaluando la presencia de virosis en plantas comerciales de tabaco cultivares Connecticut y Sumatra durante los años 2021 y 2022, se encontraron síntomas aparentes *i.e.* mosaicos, enanismo, reducción y distorsión de la lámina foliar, necrosis, clorosis, y aclaramiento de nervaduras (Figura 2). Durante las dos campañas en esta localidad, los síntomas virales se observaron a partir de los 15 días después del trasplante (ddt). La mayor incidencia (4% en promedio) en ambos cultivares de tabaco y campañas fueron a los 28 ddt. A los 42 ddt, la incidencia de virosis comienza a disminuir coincidiendo con la floración en ambos cultivares. Cabe destacar que las plantas determinadas como infectadas se eliminaron de la parcela. Resultados como estos pueden considerarse una amenaza importante para cualquier país, teniendo en cuenta que las parcelas usadas en ese estudio fueron manejadas comercialmente, es decir, se aplicaron insecticidas, se desinfectaron herramientas y se eliminaron plantas con síntomas virales aparentes.

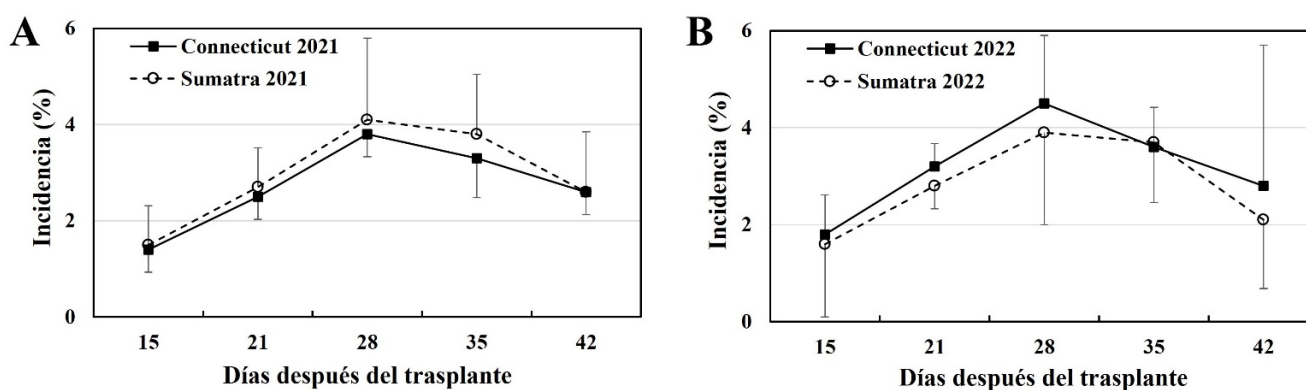


Figura 2. Incidencia de virosis en plantas comerciales de tabaco cultivares Connecticut y Sumatra durante los años 2021 (A) y 2022 (B). Las barras en cada tiempo de evaluación representan la desviación estándar. El Empalme, Guayas, Ecuador.

Identificación y caracterización de virus fitopatógenos

Contrariamente a la mayoría de fitopatógenos, los virus son parásitos obligados, dificultando su identificación y caracterización. No obstante, a través del tiempo se han desarrollado diferentes técnicas basadas en el fenotipo de los virus, incluyendo, pruebas de transmisión, técnicas bioquímicas, microscopía electrónica, y técnicas relacionadas con las proteínas de la cápside viral como ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), microscopía inmunoelectrónica, inmunotransferencia e inmunosensores de microbalanza de cristal de cuarzo. También se han desarrollado métodos basados en el análisis de ácidos nucleicos como ensayos de hibridación, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sus variantes (RT-PCR- Real Time, entre otras) ¹⁴⁶.

Las técnicas serológicas de ELISA y moleculares como hibridación molecular y amplificación de ADN son rápidas y específicas para la detección de fitovirus. ELISA se basa en la unión específica de proteínas virales con anticuerpos, mientras que la de hibridación molecular en la unión de ácidos nucleicos virales con sondas de ADN o ARN de secuencia específica. Estos sucesos de unión se visualizan mediante marcadores basados en colorantes fluorescentes, enzimas que producen reacciones colorimétricas o quimioluminiscentes ¹⁴⁷. El uso de cualquiera de estas técnicas es importante en la identificación de fitovirus. Por ejemplo, entre 1997 y 2000, en las principales regiones productoras de tabaco de Grecia, el empleo de la técnica ELISA permitiendo detectar algunos virus como AMV, CMV, EMDV, PVY, TMV y TSWV ¹⁴⁵.

Los métodos de detección basados en la amplificación de ácidos nucleicos más utilizados para la detección de patógenos son la reacción en cadena de polimerasa (PCR) y las amplificaciones isotérmicas. La PCR es una reacción *in vitro* mediada por cebadores moleculares para amplificar secuencias de ácidos nucleicos diana, basándose en la especificidad de la hibridación y replicación del ADN o ADN complementario (ADNc) en el caso de los virus de ARN ^{148,149}. Una PCR estándar es un procedimiento de tres pasos: (1) desnaturalización a alta temperatura (90–95 °C), (2) hibridación de cebadores específicos del objetivo (45–60 °C), y (3) extensión del cebador mediante una ADN polimerasa termoestable a 72 °C, obteniendo así millones de copias de ácidos nucleicos objetivo ¹⁵⁰.

Se han desarrollado diferentes variantes de PCR para mejorar la sensibilidad y especificidad para la detección de fitovirus, reportándose entre estos a la PCR anidada (nPCR), PCR de inmunocaptura (IC-PCR), PCR multiplex (M-PCR), PCR en tiempo real, y huella digital de ADN. También, están la PCR acoplada con la transcripción inversa de ARN (RT-PCR), RT-PCR en tiempo real (RT-qPCR), RT-PCR con inmunocaptura (IC-RT-PCR), y AmpliDet RNA. Todos estos métodos permiten una detección y cuantificación rápida y precisa de virus en plantas ^{151–153}. Estudios realizados para la detección de cinco especies de Tobamovirus serológicamente relacionados en *N. tabacum* y *N. benthamiana* demuestran que tanto la RT-PCR-RFLP (usando cebadores con alta homología) como la RT-PCR (usando cebadores específicos de especie) son adecuados para detectar infecciones mixtas y útiles para su diagnóstico ¹⁵⁴. De la misma manera, el uso de la RT-PCR en multiplex, ha permitido la detección simultánea de TBTv, TVDV, satellite RNA TBTv -Sat-TBTv en plantas de tabaco ¹⁵⁵.

En los últimos años se vienen utilizando otras técnicas como la amplificación isotérmica, que se puede lograr mediante dos enfoques: 1) amplificación dependiente de helicasa (HAD): utiliza una HAD para separar las hebras de dsDNA que permite la unión del cebador y la extensión mediante la ADN polimerasa a una temperatura constante aproximada de 65 °C ¹⁵⁶, 2) amplificación mediante polimerasa y recombinasa (RPA): utiliza una recombinasa, proteínas de unión a ADN monocatenario y ADN polimerasa de desplazamiento de cadena a una temperatura entre 37 y 42 °C ¹⁵⁷. Otro método isotérmico es la amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos (NASBA). Esta herramienta consta de una transcriptasa inversa para producir ADN a partir de las plantillas de ARN, la ARN polimerasa T7, la ARNasa H y dos cebadores de oligonucleótidos ¹⁵¹.

También pertenece a las técnicas isotérmicas, la amplificación de círculo rodante (RCA) que requiere un pequeño ADN circular monocatenario como plantilla para generar moléculas largas de ADN o ARN monocatenarias con múltiples unidades repetitivas que corresponden a la plantilla de ADN circular a 37 °C¹⁵⁸. Esta técnica se ha empleado en China para la detección del Nanovirus MVDV en plantas de tabaco⁷.

Uno de los métodos isotérmicos más empleados es la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), que se basa en el autociclado y la alta actividad de desplazamiento de la cadena de ADN mediada por la polimerasa Bst de *Geobacillus stearothermophilus*, en condiciones isotérmicas de 60 a 65 °C. Esta técnica proporciona una alta especificidad debido al uso de cuatro a seis cebadores que reconocen entre seis y ocho regiones independientes, todas ellas dirigidas a una región diana específica¹⁵⁹. Se han implementado algunas variantes de LAMP, incluida la amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa (RT-LAMP), que utiliza transcriptasa inversa combinada con ADN polimerasa para detectar secuencias de ARN^{160,161}. La técnica RT-LAMP ha demostrado ser extremadamente útil en el diagnóstico de muchos virus de ARN.

Recientemente, se han implementado nuevos métodos para el diagnóstico molecular de fitovirus. Uno de ellos es el basado en el sistema de inmunidad procariótico de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas (CRISPR)/genes asociados a CRISPR (Cas), que es un sistema inmunitario adaptativo que ha sido reprogramado en una tecnología de selección de genes precisa, simple y eficiente¹⁶². Esta novel tecnología ha revolucionado diversas áreas de las ciencias de la vida, la medicina y la biotecnología, donde se incluyen a la fitopatología. Aunque esta técnica molecular está siendo usada intensamente en el fitomejoramiento y desarrollo de germoplasma con rasgos beneficiosos mediante el uso de vectores virales para introducir los reactivos CRISPR/Cas en las células vegetales, también se la ha empleado en el diagnóstico molecular de fitovirus¹⁶³. Por ejemplo, utilizando el sistema CRISPR-Cas12a sensible y específico se han podido detectar en *N. benthamiana* los Geminivirus TYLCV y ToLCNDV¹⁶⁴.

La metagenómica es otra de las técnicas empleadas en la identificación de fitovirus, mediante el uso de la secuenciación de alto rendimiento. En este método, se extrae el ácido nucleico total de una muestra infectada, que incluye tanto al huésped como los patógenos virales, y luego se realiza la secuenciación de las secuencias utilizando herramientas bioinformáticas para identificar los virus presentes¹⁶⁵. Una de las ventajas que presenta la técnica, es que esta secuenciación de alto rendimiento permite la identificación y caracterización del genoma completo de un virus sin necesidad de un conocimiento previo sobre su presencia en la muestra¹⁶⁶. Este método utiliza plataformas que realizan secuenciación masiva y paralela, lo que significa que millones de fragmentos de ácidos nucleicos de una sola muestra se secuencian simultáneamente.

La aplicación de HTS en virología vegetal abarca la secuenciación, descubrimiento y detección de virus/viroides, así como estudios de ecología, epidemiología, replicación y transcripción viral. Es considerada una técnica sensible, precisa y rápida^{167,168}. No obstante, los datos generados por la HTS se convierten en grandes conjuntos de datos sin procesar, conocidos como "big data", que requieren un análisis adicional para extraer información relevante. En el análisis de secuencias, se utilizan pipelines (flujos de trabajo) de software específicos para cada etapa, siendo importante analizar la calidad de las lecturas obtenidas.

Cuando se trabaja con HTS, es importante realizar una limpieza bioinformática para eliminar lecturas y fragmentos de baja calidad. Una vez que se tienen las lecturas limpias, se lleva a cabo el ensamblaje. Este proceso implica encontrar superposiciones entre las lecturas para reconstruir secuencias de consenso o contigs (contigs) más largos. En la etapa final del análisis, se comparan los contigs obtenidos con bases de datos de secuencias virales existentes. Esto permite realizar la asignación taxonómica, es decir, identificar a qué virus pertenecen las secuencias. Se utilizan herramientas bioinformáticas (Tabla 3) especializadas que buscan

similitudes y coincidencias entre los contigs y las secuencias virales conocidas en las bases de datos, entre otras.^{166,167}

Herramientas de procesamiento de lectura			
Control de calidad	FastQC PRINSEQ multiQC	Comprueba la calidad de la secuenciación de lectura	https://www.bioinformatics.braham.ac.uk/projects/fastqc/ https://prinseq.sourceforge.net/ https://multiqc.info/
	Poretools nanoOK	Controles de calidad para lecturas largas de nanoporos	https://github.com/arq5x/poretools https://nanook.readthedocs.io/en/latest/
Preprocesamiento de lecturas sin procesar	Cutadapt Trimmomatic BBduk	Recorte de calidad, eliminación de artefactos en lecturas corta	https://cutadapt.readthedocs.io/en/stable/ http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic
	Nanocorrect, PoreSeq	Corrección de errores no híbridos para lecturas largas de nanoporos	https://github.com/jts/nanocorrect https://github.com/tszalay/poreseq
	Nanocorr	Corrección de errores híbridos para lecturas largas de nanoporos	https://github.com/jgurtowski/nanocorr
Herramientas de ensamblaje del genoma			
Genomas únicos	VICUNA	Produce el ensamblaje del genoma de consenso poblacional	https://www.broadinstitute.org/viral-genomics/vicuna
	IVA	Ensamblador diseñado para virus de ARN	https://sanger-pathogens.github.io/iva/
	SPAdes	Ensamblador genérico del genoma	https://github.com/ablab/spades
	Canu Miniasm	Ensambladores no híbridos para lecturas largas de nanoporos	https://github.com/marbl/canu https://github.com/lh3/miniasm
	Unicycler	Pipeline de ensamblaje híbrido para lecturas largas de nanoporos con el uso de lecturas cortas	https://github.com/rrwick/Unicycler
Metagenomas	MEGAHIT metaSPAdes Ray-meta IBDA-UD	Ensambladores optimizados para datos metagenómicos	https://github.com/voutcn/megahit https://github.com/ablab/spades https://github.com/sebhtml/ray https://github.com/lon-eknightpy/idba
	crAss	Análisis de ensamblaje cruzado de múltiples metagenomas	https://crass.sourceforge.net/

Lectura de mapas	BWA Bowtie BBmap	Alinear secuencias de lectura cortas con una referencia	https://bio-bwa.sourceforge.net/ https://bowtie-bio.sourceforge.net/manual.shtml https://github.com/BioInfo-Tools/BBMap/blob/master/bbmap-help-Biostar.md
	STAR	Alineador con reconocimiento de empalme para datos de RNA-seq	https://github.com/alexdobin/STAR
	GraphMap LAST	Alinear secuencias de lectura largas con una referencia	https://github.com/isovic/graphmap https://github.com/mcfrith/last-rna/blob/master/last-long-reads.md
Predicción genética			
	ORF Finder	Busca marcos de lectura abiertos en la secuencia proporcionada	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orf-finder/
	Prodigal	Una herramienta de software de predicción de genes codificadores de proteínas	https://github.com/hyattpd/Prodigal
	VIGOR	Programa de anotación para genomas virales pequeños	https://www.jcvi.org/research/vigor
Búsquedas de similitud			
	BLAST	Un conjunto de herramientas para encontrar regiones de similitud entre el ADN y las secuencias de proteínas	https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi
	HHpred	Detección de homología de proteínas sensibles, función y predicción de estructura	https://toolkit.tuebingen.mpg.de/tools/hhpred
	HMMER	Búsqueda basada en homología	http://hmmer.org/
Alineación de secuencias múltiples			
	MAFFT ClustalW	Alineación de secuencias múltiples para secuencias de ADN y proteínas	https://mafft.cbrc.jp/alignment/software/ https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw
	MUSCLE	Alineación de secuencias múltiples para secuencias de proteínas	https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/
Anotación taxonómica de secuencia			

	CAT/BAT Kraken Centrifuge Kaiju	Asignar etiquetas taxonómicas a lecturas o contigs ensamblados	https://github.com/dutilh/CAT https://ccb.jhu.edu/software/kraken/MANUAL.html https://ccb.jhu.edu/software/centrifuge/manual.shtml https://kaiju.binf.ku.dk/
Filogenias			
	RaxML, PhyML	Inferencia de grandes árboles filogenéticos	https://github.com/stamatak/standard-RAxML https://github.com/stephaneguindon/phyml
	BEAST	Un paquete de software para el análisis filogenético con énfasis en árboles a escala temporal	https://beast.community/
Taxonomía y clasificación			
	GRAViTy	Clasificación de los virus eucariotas	http://gravity.cvr.gla.ac.uk
	vConTACT	Clasificación de los virus de ADN bicatenario de bacterias y arqueas	https://bitbucket.org/MAVERICLab/vcontact2/src/master/
	VICTOR	Filogenia basada en el genoma y clasificación de virus procariotas	https://ggdc.dsmz.de/victor.php
Estructuras secundarias de ARN			
	Mfold UNAFold	Predicción de la estructura secundaria del ARN	https://bio.tools/mfold http://www.unafold.org/
	ViennaRNA package	Conjunto de herramientas para realizar la predicción y comparación de estructuras de ARN	https://github.com/ViennaRNA/ViennaRNA
	LocARNA	Alineación de secuencias múltiples guiada por estructura de secuencias de ARN	https://github.com/s-will/LocARNA
Transcriptómica			
	DESeq2 Sleuth	Análisis estadístico de datos RNA-seq	https://github.com/mikelove/DESeq2 https://github.com/pachterlab/sleuth
Bases de datos			
	ViralZone	Vincular el conocimiento específico para cada familia de virus con las proteínas virales y las secuencias genómicas	https://viralzone.expasy.org/

	Virus Variation Resource	Un portal comunitario para datos de secuencias virales	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/viruses/variation/
	Virus Pathogen Database and Analysis Resource (ViPR)	Un repositorio integrado de datos y herramientas de análisis para múltiples familias de virus	https://legacy.vi-prbrc.org/brc/home.spg?decorator=vipr

Tabla 3. Lista de herramientas y recursos de software seleccionados para tareas de bioinformática de virus

CONCLUSIONES

El tabaco (*N. tabacum*) es una de las especies vegetales con mayor susceptibilidad a patógenos, encontrándose más de 60 reportes de al menos 20 géneros virales. Dentro de este grupo existen virus de importancia económica por los daños que causan al hospedante, entre los que destacan TMV (Tobamovirus), CMV (Cucumovirus), PVY, TVMV y TEV (todos tres Potyvirus), TLCV (Begomovirus), y TSWV (Tospovirus). La mayoría de los virus que afectan plantas de tabaco principalmente son transmitidos por insectos, pero también por hongos, nematodos, semillas, polen y de forma mecánica. La incidencia de estos patógenos virales parece depender de diferentes factores como del genotipo usado, la edad de las plantas, prácticas de manejo, entre otros componentes, alcanzando valores entre 0,8 y 100%. Los fitovirus son identificados o caracterizados a través de pruebas de transmisión, técnicas bioquímicas y de microscopía electrónica, así como las relacionadas a las proteínas de la cápside viral como las técnicas de ELISA, microscopía inmuno-electrónica, inmunotransferencia, e inmunosensores de microbalanza de cristal de cuarzo. También, se los puede identificar usando diferentes variantes de PCR (nPCR, IC-PCR, M-PCR, PCRrt, RT-PCR, IC-RT-PCR y AmpliDet RNA), amplificación isotérmica (HAD, RPA, NASBA, RCA, LAMP y RT-LAMP), sistema de inmunidad procariótico de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas (CRISPR), y secuenciación de nueva generación.

Conflictos de interés:

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Contribución de autores

Todos los autores contribuyeron en la lectura, conceptualización, revisión y edición del manuscrito.

Financiación

Universidad Técnica de Manabí: BECA PARA EL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN A TRAVÉS DE SU TITULACIÓN.

REFERENCIAS

1. Russell, E. A. & Rahman, E. *The Master Plant: Tobacco in Lowland South America. The Master Plant: Tobacco in Lowland South America* (Bloomsbury Academic, 2015). doi:10.5040/9781474220279.
2. Chiurciu, I. A., Zaharia, I. & Soare, E. Aspects of the Tobacco Market Within the European Union and a Brief Moral Reflection on Smoking. *Scientific Papers-Series Management Economic Engineering in Agriculture and Rural Development* **19**, 59–68 (2019).

3. Warner, K. E. The economics of Tobacco: myths and realities. *Tob Control* **9**, 78–89 (2000). Doi: 10.1136/tc.9.1.78.
4. Akinyemi, I. A., Wang, F., Zhou, B., Qi, S. & Wu, Q. Ecogenomic survey of plant viruses infecting Tobacco by Next generation sequencing. *Virol J* **13**, 181 (2016). Doi: 10.1186/s12985-016-0639-7.
5. Paximadis, M., Idris, A. M., Villarreal, A. & Rey, M. E. C. Characterization of tobacco Geminiviruses in the old and new world. 703–717 (1999).
6. Duke, M. Ethnicity, Well-Being, and the Organization of Labor among Shade Tobacco Workers. *Med Anthropol* **30**, 409–424 (2011). Doi: 10.1080/01459740.2011.576727
7. Kamran, A. *et al.* Full genome sequence analysis and putative host-shifting of *Milk vetch dwarf virus* infecting Tobacco (*Nicotiana tabacum*) in China. *Virol J* **16**, 1–5 (2019). Doi: 10.1186/s12985-019-1129-5
8. Takakura, Y., Udagawa, H., Shinjo, A. & Koga, K. Mutation of a *Nicotiana tabacum* L. eukaryotic translation-initiation factor gene reduces susceptibility to a resistance-breaking strain of *Potato virus Y*. *Mol Plant Pathol* **19**, 2124–2133 (2018). Doi: 10.1111/mpp.12686.
9. Wang, S., Cui, W., Wu, X., Yuan, Q., Zhao, J., Zheng, H., ... & Yan, F. Suppression of nbe-miR166h-p5 attenuates leaf yellowing symptoms of potato virus X on *Nicotiana benthamiana* and reduces virus accumulation. *Mol Plant Pathol* **19**, 2384–2396 (2018). Doi: 10.1111/mpp.12717.
10. Zellner, W., Frantz, J. & Leisner, S. Silicon delays Tobacco ringspot virus systemic symptoms in *Nicotiana tabacum*. *J Plant Physiol* **168**, 1866–1869 (2011). Doi: 10.1016/j.jplph.2011.04.002.
11. Cheng, L., Chen, X., Jiang, C., Ma, B., Ren, M., Cheng, Y., Liu, D., Geng, R. & Yang, A. High-density SNP genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping for resistance to cucumber mosaic virus in Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Crop Journal* **7**, 539–547 (2019). Doi: 10.1016/j.cj.2018.11.010.
12. Dhawi, F. El-Beltagi, H. S., Abdel-Mobdy, Y., Salah, S., Ghaly, I. S., Abdel-Rahim, E. A., Mohamed, H. I. & Soliman, A. M. Synergistic impact of the pomegranate peels and its nanoparticles against the infection of tobacco mosaic virus (TMV). *Fresenius Environ Bull* **30**, 731–746 (2021).
13. Gao, R., Tian, Y. P., Wang, J., Yin, X., Li, X. D., & Valkonen, J. P. Construction of an infectious cDNA clone and gene expression vector of *Tobacco vein banding mosaic virus* (genus Potyvirus). *Virus Res* **169**, 276–281 (2012). Doi: 10.1016/j.virusres.2012.07.010.
14. Konakalla, N. C., Bag, S., Deraniyagala, A. S., Culbreath, A. K. & Pappu, H. R. Induction of plant resistance in Tobacco (*Nicotiana tabacum*) against *Tomato spotted wilt orthotospovirus* through foliar application of dsRNA. *Viruses* **13**, (2021). Doi: 10.3390/v13040662.
15. Hidayat, S. H., Chatchawankanpanich, O. & Aidawati, N. Molecular Identification and Sequence Analysis of Tobacco Leaf Curl Begomovirus from Jember, East Java, Indonesia. *Hayati* **15**, 13–17 (2008). Doi: 10.4308/hjb.15.1.13
16. Hañcinský, R., Mihálik, D., Mrkvová, M., Candresse, T. & Glasa, M. Plant viruses infecting solanaceae family members in the cultivated and wild environments: A review. *Plants* **9**, (2020). Doi: 10.4308/hjb.15.1.13.
17. Gao, F. Liu, X., Du, Z., Hou, H., Wang, X., Wang, F., & Yang, J. Bayesian phylodynamic analysis reveals the dispersal patterns of tobacco mosaic virus in China. *Virology* **528**, 110–117 (2019). Doi: 10.1016/j.virol.2018.12.001

18. Dai, J., Peng, H., Chen, W., Cheng, J. & Wu, Y. Development of multiplex real-time PCR for simultaneous detection of three Potyviruses in tobacco plants. *J Appl Microbiol* **114**, 502–508 (2012). Doi: 10.1111/jam.12071.
19. Zanardo, L. G., de Souza, G. B. & Alves, M. S. Transcriptomics of plant–virus interactions: a review. *Theor Exp Plant Physiol* **31**, 103–125 (2019). Doi: 10.1007/s40626-019-00143-z.
20. Zwart, M. P. & Elena, S. F. Modeling multipartite virus evolution: The genome formula facilitates rapid adaptation to heterogeneous environments. *Virus Evol* **6**, 1–13 (2020). Doi: 10.1093/VE/VEAA022.
21. Ormeño, J., Sepúlveda, P., Rojas, R. & Araya, J. E. Datura Genus Weeds as an Epidemiological Factor of *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), and *Potato virus Y* (PVY) on Solanaceus Crops. *Agricultura Técnica* **66**, 333–341 (2006). Doi: 10.4067/S0365-28072006000400001.
22. Moury, B. & Verdin, E. Viruses of Pepper Crops in the Mediterranean Basin. in *Advances in Virus Research* vol. 84 127–162 (2012). Doi: 10.1016/B978-0-12-394314-9.00004-X.
23. Xu, H. & Nie, J. Identification, characterization, and molecular detection of Alfalfa mosaic virus in Potato. *Phytopathology* **96**, 1237–1242 (2006). Doi: 10.1094/PHYTO-96-1237.
24. Gao, Z., Pu, H., Liu, J., Wang, X., Zhong, C., Yue, N., ... & Zhang, Y. Tobacco necrosis virus-AC single coat protein amino acid substitutions determine host-specific systemic infections of *Nicotiana benthamiana* and soybean. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **34**, 49–61 (2021). Doi: 10.1094/MPMI-07-20-0184-R.
25. Varanda, C. M. R. *et al.* A degenerate pair of primers for simultaneous detection of four alpha- and betanecroviruses. *J Virol Methods* **208**, 63–65 (2014). Doi: 10.1016/j.jviromet.2014.08.004.
26. Babaei, G., Massah, A. & Koochi Habibi, M. Efficient translation of *Eggplant mottled dwarf nucleorhabdovirus* N and X genes requires both 5' and 3' UTRs. *Virol J* **18**, 1–9 (2021). Doi: 10.1186/s12985-021-01601-4.
27. Fauquet, C. M. *et al.* Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Arch Virol* **153**, 783–821 (2008). Doi: 10.1007/s00705-008-0037-6.
28. Goth, R. W., Ellis, P. J., De Villiers, G., Goins, E. W. & Wright, N. S. Characteristics and distribution of *Potato latent carlavirus* (*Red LaSoda virus*) in North America. *Plant Dis* **83**, 751–753 (1999). Doi: 10.1094/PDIS.1999.83.8.751.
29. Kumar Tiwari, R., Kumar, R., Kaundal, P., Sharma, S. & Chakrabarti, S. Potato viruses and their diagnostic techniques: An overview. *J Pharmacogn Phytochem* **8**, 1932–1944 (2019).
30. Loebenstein, G., Berger, P. H., Brunt, A. A. & Lawson, R. H. *Virus and Virus-like Diseases of Potatoes and Production of Seed-Potatoes*. Springer Science & Business Media (Springer Netherlands, 2001). Doi:10.1007/978-94-007-0842-6.
31. Sastry, K. S., Mandal, B., Hammond, J., Scott, S. W. & Briddon, R. W. *Allium ampeloprasum* var. porrum (Leek). in *Encyclopedia of Plant Viruses and Viroids* 53–57 (Springer India, 2019). Doi:10.1007/978-81-322-3912-3_26.
32. Wang, F, Qi, S., Gao, Z., Akinyemi, I. A., Xu, D., & Zhou, B. Complete genome sequence of *Tobacco virus 1*, a Closterovirus from *Nicotiana tabacum*. *Arch Virol* **161**, 1087–1090 (2016). Doi: 10.1007/s00705-015-2739-x.
33. Fiallo-Olivé, E., Martínez-Zubiau, Y., Hernández-Zepeda, C., Carrillo-Trip, J. & Rivera-Bustamante, R. Identification of New Begomoviruses in Cuba Using Rolling Circle Amplification. *Rev Prot Veg* **24**, 81–86 (2009).

34. Wisler, G. C., Duffus, J. E., Liu, H. & Li, R. H. Ecology and Epidemiology of Whitefly - Transmitted Closteroviruses. *Plant Dis* **82**, 270–280 (1998).
35. Tungadi, T., Groen, S. C., Murphy, A. M., Pate, A. E., Iqbal, J., Bruce, T. J., Cunniffe, N. J. & Carr, J. P. *Cucumber mosaic virus* and its 2b protein alter emission of host volatile organic compounds but not aphid vector settling in Tobacco. *Virol J* **14**, 1–9 (2017). Doi: 10.1186/s12985-017-0754-0.
36. Tungadi, T., Donnelly, R., Qing, L., Iqbal, J., Murphy, A. M., Pate, A. E., Cunniffe, N. J. & Carr, J. P. *Cucumber mosaic virus* 2b proteins inhibit virus-induced aphid resistance in Tobacco. *Mol Plant Pathol* **21**, 250–257 (2019). Doi: 10.1111/mpp.12892.
37. Kameya-Iwaki, M., Murakami, K., Ito, S., Hanada, K. & Tanaka, S. Semipersistency of *Myzus persicae* Transmission of Cucumoviruses Systemically Infecting Leguminous Plants. *Journal of General Plant Pathology* **66**, 64–67 (2000). Doi: 10.1007/pl00012922.
38. Ferreiro, C., Ostrówka, K., López-Moya, J. J. & Díaz-Ruíz, J. R. Nucleotide sequence and symptom modulating analysis of a peanut stunt virus-associated satellite RNA from Poland: High level of sequence identity with the American PSV satellites. *Eur J Plant Pathol* **102**, 779–786 (1996). Doi: 10.1016/j.jviromet.2021.114277.
39. Obrępańska-Stęplowska, A., Budziszewska, M., Wieczorek, P. & Czerwoniec, A. Analysis of two strains of *Peanut stunt virus*: SatRNA-associated and satRNA free. *Virus Genes* **44**, 513–521 (2012). Doi: 10.1007/s11262-012-0729-6.
40. Sharman, M., Thomas, J. E. & Persley, D. M. Natural host range, thrips and seed transmission of distinct *Tobacco streak virus* strains in Queensland, Australia. *Annals of Applied Biology* **167**, 197–207 (2015). Doi: 10.1111/aab.12218.
41. Pradeep, K. K., Satya, V. K., Selvapriya, M., Vijayasamundeeswari, A., Ladhakshmi, D., Paraniharan, V., Rabindran, R., Samiyappan, R., Balasubramanian, P. & Velazhahan, R. Engineering resistance against *Tobacco streak virus* (TSV) in sunflower and Tobacco using RNA interference. *Biol Plant* **56**, 735–741 (2012). Doi: 10.1007/s10535-012-0111-5.
42. Khalid, S., Zia-ur-Rehman, M., Hameed, U., Saeed, F., Khan, F., & Haider, M. S. Transmission specificity and coinfection of Mastrevirus with Begomovirus. *Int J Agric Biol* **19**, 105–113 (2017). Doi: 10.17957/IJAB/15.0249.
43. Ashraf, M. *et al.* Influence of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, alone and in combination with diatomaceous earth and thiamethoxam on mortality, progeny production, mycosis, and sporulation of the stored grain insect pests. *Environmental Science and Pollution Research* **24**, 28165–28174 (2017). Doi: 10.1007/s11356-017-0383-6.
44. Karapetsi, L., Chatzivassiliou, E. K., Katis, N. I. & Maliogka, V. I. *Artichoke yellow ringspot virus* as the causal agent of a new viral disease of lettuce: Epidemiology and molecular variability. *Plant Pathol* **70**, 594–603 (2021). Doi: 10.1111/ppa.13309.
45. Gallitelli, D., Mascia, T. & Martelli, G. P. *Viruses in Artichoke*. *Advances in Virus Research* vol. 84 (Elsevier Inc., 2012).
46. Zarzyńska-Nowak, A., Ferriol, I., Falk, B. W., Borodynko-Filas, N. & Hasiów-Jaroszewska, B. Construction of *Agrobacterium tumefaciens*-mediated *Tomato black ring virus* infectious cDNA clones. *Virus Res* **230**, 59–62 (2017). Doi: 10.1016/j.virusres.2017.01.014.
47. Šneideris, D. & Staniulis, J. Phylogenetic analysis of *Lithuanian tomato black ring virus* isolates. *Zemdirbyste-Agriculture* **101**, 193–198 (2014). Doi: 10.1016/j.jviromet.2021.114277.

48. Samuitienė, M., Zitikaitė, I., Navalinskienė, M. & Valiūnas, D. Identification of *Tomato ringspot nepo-virus* by RT-PCR. **4**, 35–38 (2021).
49. Renvoisé, J. P., Chambon, F., Gleize, M., Pradeilles, N., Garnier, S., & Rolland, M. Selection, optimization and characterization of molecular tests for the detection of *Tobacco ringspot virus* (TRSV). *EPPO Bulletin* **49**, 111–121 (2019). Doi: 10.1111/epp.12554.
50. Rowhani, A., Daubert, S. D., Uyemoto, J. K., Al Rwahnih, M. & Fuchs, M. Grapevine viruses: Molecular biology, diagnostics and management. in *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management* 109–126 (2017). Doi:10.1007/978-3-319-57706-7.
51. Wang, R. Y., Kritzman, A., Hershman, D. E. & Ghabrial, S. A. *Aphis glycines* as a vector of persistently and nonpersistently transmitted viruses and potential risks for soybean and other crops. *Plant Dis* **90**, 920–926 (2006). Doi: 10.1094/PD-90-0920.
52. Huang, C. *et al.* Transcriptomic profile of Tobacco in response to *Tomato zonate spot orthotospovirus* infection. *Virol J* **14**, 1–11 (2017). Doi: 10.1186/s12985-017-0821-6
53. Zheng, X., Zhang, J., Chen, Y., Dong, J. & Zhang, Z. Effects of tomato zonate spot virus infection on the development and reproduction of its vector *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Florida Entomologist* **97**, 549–554 (2014). Doi: 10.1896/054.097.0228.
54. Wu, X., Wu, X., Li, W. & Cheng, X. Molecular characterization of a divergent strain of *Calla lily chlorotic spot virus* infecting cetulce (*Lactuca sativa* var. *augustana*) in China. *Arch Virol* **163**, 1375–1378 (2018). Doi: 10.1007/s00705-018-3743-8.
55. Kuo, Y. W., Gilbertson, R. L., Turini, T., Brennan, E. B., Smith, R. F., & Koike, S. T. Characterization and epidemiology of outbreaks of *Impatiens necrotic spot virus* on lettuce in Coastal California. *Plant Dis* **98**, 1050–1059 (2014). Doi: 10.1094/PDIS-07-13-0681-RE.
56. Martínez-Ochoa, N., Csinos, A. S., Whitty, E. B., Johnson, A. W. & Parrish, M. J. First Report on the Incidence of Mixed Infections of *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) and *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in Tobacco Grown in Georgia, South Carolina, and Virginia. *Plant Health Prog* **4**, 40 (2003). Doi: 10.1094/php-2003-0417-01-hn.
57. Zarzyńska-Nowak, A., Hasiów-Jaroszewska, B., Korbecka-Glinka, G., Przybyś, M. & Borodynko-Filas, N. A multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of *Tomato spotted wilt virus* and *Tomato yellow ring virus* in tomato plants. *Canadian Journal of Plant Pathology* **40**, 580–586 (2018). Doi: 10.1080/07060661.2018.1503195.
58. Tan, S. T., Liu, F., Lv, J., Liu, Q. L., Luo, H. M., Xu, Y., Ma, Y., Chen, X., Lan, P., Chen, H., Cao, M. & Li, F. *et al.* Identification of two novel poleroviruses and the occurrence of *Tobacco bushy top disease* causal agents in natural plants. *Sci Rep* **11**, 1–14 (2021). Doi: 10.1038/s41598-021-99320-x.
59. Mo, X. H., Chen, Z. B. & Chen, J. P. Complete nucleotide sequence and genome organization of a Chinese isolate of *Tobacco vein distorting virus*. *Virus Genes* **41**, 425–431 (2010). Doi: 10.1007/s11262-010-0524-1.
60. Mo, X. H., Chen, Z. B. & Chen, J. P. Molecular identification and phylogenetic analysis of a viral RNA associated with the Chinese tobacco bushy top disease complex. *Annals of Applied Biology* **158**, 188–193 (2011). Doi: 10.1111/j.1744-7348.2010.00452.x.
61. Wang, Q., Mao, J. J., Xiang, H. Y., Dong, L. H., Sun, Y. H., Liu, G. S., & Liu, H. B. First report of *Brassica yellows virus* on Tobacco in China. *Plant Dis* **99**, 1192 (2015). Doi: 10.1094/PDIS-04-15-0426-PDN.

62. Wang, Q. Xu, F. Z., An, L. L., Xiang, H. Y., Zhang, W. H., Liu, G. S., & Liu, H. B. Molecular characterization of a new recombinant *Brassica yellows virus* infecting Tobacco in China. *Virus Genes* **55**, 253–256 (2019). Doi: 10.1007/s11262-019-01636-4.
63. Zuo, D. P., He, M. J., Chen, X. R., Hu, R. J., Zhao, T. Y., Zhang, X. Y., ... & Han, C. G. A simple method for the acquisition and transmission of *Brassica yellows virus* from transgenic plants and frozen infected leaves by aphids. *Plants* **10**, (2021). Doi: 10.3390/plants10091944.
64. Milošević, D., Ignjatov, M., Marjanović-Jeromela, A., Stanković, I., Nikolić, Z., Tamindžić, G., & Krstić, B. Molecular characterization of *Turnip yellows virus*- a new pathogen of mustard in Serbia. *Ratar.Povrt.* **56**, 82–87 (2019). Doi: 10.5937/ratpov56-23514.
65. Wang, F., Wu, Q. F., Zhou, B. G., Gao, Z. L. & Xu, D. F. First Report of *Turnip yellows virus* in Tobacco in China. *Plant Dis* **99**, 1870–1870 (2015). Doi: 10.1094/PDIS-04-15-0426-PDN
66. Alcaide, C., Rabadán, M. P., Juárez, M. & Gómez, P. Long-term cocirculation of two strains of *Pepino mosaic virus* in tomato crops and its effect on population genetic variability. *Phytopathology* **110**, 49–57 (2020). Doi: 10.1094/PHYTO-07-19-0247-FI.
67. Blystad, D. R., van der Vlugt, R., Alfaro-Fernández, A., del Carmen Córdoba, M., Bese, G., Hristova, D., Pospieszny, H., Mehle, N., Ravnikar, M., Tomassoli, L., Varveri, C. & Nielsen, S. L. Host range and symptomatology of *Pepino mosaic virus* strains occurring in Europe. *Eur J Plant Pathol* **143**, 43–56 (2015). Doi: 10.1007/s10658-015-0664-1.
68. Shipp, J. L., Buitenhuis, R., Stobbs, L., Wang, K., Kim, W. S., & Ferguson, G. Vectoring of *Pepino mosaic virus* by bumble-bees in tomato greenhouses. *Annals of Applied Biology* **153**, 149–155 (2008). Doi: 10.1111/j.1744-7348.2008.00245.x.
69. Noël, P., Hance, T. & Bragard, C. Transmission of the *Pepino mosaic virus* by whitefly. *Eur J Plant Pathol* **138**, 23–27 (2014). Doi: 10.1007/s10658-013-0313-5.
70. Khan, A., Tabassum, B., Nasir, I. A., Bilal, M., Tariq, M., & Husnain, T. *Potato virus X* from Pakistan: Coat protein sequence analysis. *J Anim Plant Sci* **25**, 1016–1021 (2015).
71. Verchot, J. *Potato virus X*: A global potato-infecting virus and type member of the Potexvirus genus. *Mol Plant Pathol* **23**, 315–320 (2022). Doi: 10.1111/mpp.13163.
72. Röder, J., Dickmeis, C. & Commandeur, U. Small, smaller, nano: New applications for potato virus X in nanotechnology. *Front Plant Sci* **10**, 158 (2019). Doi: 10.3389/fpls.2019.00158
73. Rao, S., Chen, X., Qiu, S., Peng, J., Zheng, H., Lu, Y., Wu, G., Chen, J., Jiang, W., Zhang, Y. & Yan, F. Identification of Two New Isolates of *Chilli veinal mottle virus* from different regions in China: Molecular diversity, Phylogenetic and Recombination Analysis. *Front Microbiol* **11**, 1–7 (2020). Doi: 10.3389/fmicb.2020.616171.
74. Ryšlavá, H., Müller, K., Semorádová, Š., Synková, H. & Čěřovská, N. Photosynthesis and activity of phosphoenolpyruvate carboxylase in *Nicotiana tabacum* L. leaves infected by *Potato virus A* and *Potato virus Y*. *Photosynthetica* **41**, 357–363 (2003). Doi: 10.1111/pce.12752.
75. Ahmadvand, R., Takács, A., Taller, J., Wolf, I. & Polgár, Z. Potato viruses and resistance genes in potato. *Acta Agronomica Hungarica* **60**, 283–298 (2012). Doi: 10.1556/AAgr.60.2012.3.10.
76. Fox, A., Collins, L. E., Macarthur, R., Blackburn, L. F. & Northing, P. New aphid vectors and efficiency of transmission of *Potato virus A* and strains of *Potato virus Y* in the UK. *Plant Pathol* **66**, 325–335 (2017). Doi: 10.1111/ppa.12561.

77. Matsumoto, K., Yasaka, R., Setoyama, T., Kawano, S. & Ohshima, K. Chilli pepper rugose mosaic disease caused by *Pepper veinal mottle virus* occurs on Ishigaki Island, Japan. *Journal of General Plant Pathology* **82**, 57–60 (2016). Doi: 10.1007/s10327-015-0634-7.
78. Moury, B., Palloix, A., Caranta, C., Gognalons, P., Souche, S., Selassie, K. G. Serological, molecular, and pathotype diversity of *Pepper veinal mottle virus* and *Chili veinal mottle virus*. *Phytopathology* **95**, 227–232 (2005). Doi: 10.1094/PHYTO-95-0227.
79. Alegbejo, M. D. & Abo, M. E. Ecology, Epidemiology and Control of Pepper Veinal mottle virus (PVMV), Genus Potyvirus, in West Africa. *Journal of Sustainable Agriculture* **20**, 5–16 (2002). Doi: 10.1300/J064v20n02_03.
80. Fajinmi, A. A. *Pepper Veinal Mottle Virus*, a Potyvirus of pepper under tropical conditions. *International Journal of Vegetable Science* **19**, 150–156 (2013). Doi: 10.1080/19315260.2012.687439.
81. Mondal, S., Ghanim, M., Roberts, A. & Gray, S. M. Different potato virus Y strains frequently co-localize in single epidermal leaf cells and in the aphid stylet. *Journal of General Virology* **102**, 001576 (2021). Doi: 10.1099/jgv.0.001576.
82. Faurez, F., Baldwin, T., Tribodet, M. & Jacquot, E. Identification of new Potato virus Y (PVY) molecular determinants for the induction of vein necrosis in Tobacco. *Mol Plant Pathol* **13**, 948–959 (2012). Doi: 10.1111/j.1364-3703.2012.00803.x.
83. Ren, G., Wang, X. F., Chen, D., Wang, X. W., Fan, X. J., & Liu, X. D. Potato virus Y-infected Tobacco affects the growth, reproduction, and feeding behavior of a vector aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Appl Entomol Zool* **50**, 239–243 (2015). Doi: 10.1007/s13355-015-0328-9.
84. Kirchner, S. M., Döring, T. F., Hiltunen, L. H., Virtanen, E. & Valkonen, J. P. T. Information-theory-based model selection for determining the main vector and period of transmission of *Potato virus Y*. *Annals of Applied Biology* **159**, 414–427 (2011). Doi: 10.1111/j.1744-7348.2011.00501.x.
85. Pelletier, Y., Nie, X., Giguère, M. A., Nanayakkara, U., Maw, E., & Foottit, R. A new approach for the identification of aphid vectors (Hemiptera: Aphididae) of *Potato virus Y*. *J Econ Entomol* **105**, 1909–1914 (2012). Doi: 10.1603/EC12085.
86. Agudelo-Romero, P., de la Iglesia, F. & Elena, S. F. The pleiotropic cost of host-specialization in *Tobacco etch potyvirus*. *Infection, Genetics and Evolution* **8**, 806–814 (2008). Doi: 10.1016/j.mecgid.2008.07.010.
87. Ruiz-Ferrer, V., Boskovic, J., Alfonso, C., Rivas, G., Llorca, O., López-Abella, D., & López-Moya, J. J. Structural analysis of Tobacco etch potyvirus HC-Pro oligomers involved in aphid transmission. *J Virol* **79**, 3758–3765 (2005). Doi: 10.1128/JVI.79.6.3758-3765.2005.
88. Lai, R., You, M., Lotz, L. A. P. (Bert) & Vasseur, L. Response of green peach aphids and other arthropods to garlic intercropped with Tobacco. *Agron J* **103**, 856–863 (2011). Doi: 10.2134/agronj2010.0404.
89. Wei, S., He, X., Wang, D., Xiang, J., Yang, Y., Yuan, S., Shang, J. & Yang, H.. Genetic structure and variability of tobacco vein banding mosaic virus populations. *Arch Virol* **164**, 2459–2467 (2019). Doi: 10.1007/s00705-019-04342-6.
90. Zhang, C. L., Gao, R., Wang, J., Zhang, G. M., Li, X. D., & Liu, H. T. Molecular variability of *Tobacco vein banding mosaic virus* populations. *Virus Res* **158**, 188–198 (2011). Doi: 10.1016/j.virusres.2011.03.031.
91. Yu, X.-Q., Lan, Y. F., Wang, H. Y., Liu, J. L., Zhu, X. P., Valkonen, J. P., & Li, X. D. The complete genomic sequence of *Tobacco vein banding mosaic virus* and its similarities with other Potyviruses. *Virus Genes* **35**, 801–806 (2007). Doi: 10.1007/s11262-007-0135-7.

92. Gadhve, K. R., Saurabh, G., Rasmussen, D. A. & Srinivasan, R. Aphid transmission of Potyvirus : The largest plant-infecting RNA virus. *Viruses* **12**, 773 (2020). Doi: 10.3390/v12070773.
93. Salvador, B., Saenz, P., Yangüez, E., Quiot, J. B., Quiot, L., Delgadillo, M. O., García, J. & SIMÓN-MATEO, C. Host-specific effect of P1 exchange between two Potyviruses. *Mol Plant Pathol* **9**, 147–155 (2008). Doi: 10.1111/j.1364-3703.2007.00450.x.
94. Blawid, R., Rodrigues, K. B., de Moraes Rêgo, C., Inoue-Nagata, A. K. & Nagata, T. Complete genome sequence of Tobacco mosqueado virus. *Arch Virol* **161**, 2619–2622 (2016). Doi: 10.1007/s00705-016-2956-y.
95. Nasim, N. & Dey, N. Pararetroviruses: Plant Infecting dsDNA Viruses. *Plant Mol Biol Report* **40**, 106–118 (2022). Doi: 10.1007/s11105-021-01294-7.
96. Zhao, W., Wu, S., Du, L., Li, T., Cheng, Z., Zhou, Y., & Ji, Y. Development of a reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay for the detection of *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV). *J Virol Methods* **298**, 114277 (2021). Doi: 10.1016/j.jviromet.2021.114277.
97. El-Gendi, H., Al-Askar, A. A., Király, L., Samy, M. A., Moawad, H., & Abdelkhalek, A. Foliar applications of *Bacillus subtilis* HA1 culture filtrate enhance tomato growth and induce systemic resistance against *Tobacco mosaic virus* Infection. *Horticulturae* **8**, 1–21 (2022). Doi: 10.3390/horticulturae8040301.
98. Abo-Zaid, G. A., Matar, S. M. & Abdelkhalek, A. Induction of plant resistance against *Tobacco mosaic virus* using the biocontrol agent *Streptomyces cellulosa* isolate Actino 48. *Agronomy* **10**, 1620 (2020). Doi: 10.3390/agronomy10111620.
99. Ellis, M. D., Hoak, J. M., Ellis, B. W., Brown, J. A., Sit, T. L., Wilkinson, C. A., Reed, T. D. & Welbaum, G. E. Quantitative real-time PCR analysis of individual flue-cured tobacco seeds and seedlings reveals seed transmission of *Tobacco mosaic virus*. *Phytopathology* **110**, 194–205 (2020). Doi: 10.1094/PHYTO-06-19-0201-FI.
100. Ladipo, J. L., Koenig, R. & Lesemann, D. E. *Nigerian tobacco latent virus*: A new Tobamovirus from Tobacco in Nigeria. *Eur J Plant Pathol* **109**, 373–379 (2003). Doi: 10.1023/A:1023557723943.
101. Mojtahedi, H., Santo, G. S., Thomas, P. E., Crosslin, J. M. & Boydston, R. A. Eliminating *Tobacco rattle virus* from viruliferous *Paratrichodorus allius* and Establishing a New Virus-Vector Combination. *J Nematol* **34**, 66–9 (2002).
102. Otulak, K., Chouda, M., Chrzanowska, M. & Garbaczewska, G. Ultrastructural effects of infection caused by *Tobacco rattle virus* transmitted by *Trichodorus primitivus* in potato and tobacco tissues. *Canadian Journal of Plant Pathology* **34**, 126–138 (2012). Doi: 10.1080/07060661.2012.665387.
103. Otulak, K., Chouda, M., Bujarski, J. & Garbaczewska, G. The evidence of *Tobacco rattle virus* impact on host plant organelles ultrastructure. *Micron* **70**, 7–20 (2015). Doi: 10.1016/j.micron.2014.11.007.
104. Elmhirst, J. F. & Forge, T. A. Winter cover crops as reservoirs of *Tobacco rattle virus* (TRV) and hosts of root-lesion, root knot and stubby-root nematodes. *Canadian Journal of Plant Pathology* **43**, 631–640 (2021). Doi: 10.1080/07060661.2020.1867898.
105. Ribeiro, S., Kitajima, E., Oliveira, C. & Koenig, R. A Strain of *Eggplant mosaic virus* isolated from naturally infected tobacco plants in Brazil. *Plant Disease (USA)* vol. 80 446–449 Preprint at (1996).
106. Megias, E. *et al.* Chloroplast proteome of *Nicotiana benthamiana* infected by *Tomato blistering mosaic virus*. *Protein Journal* **37**, 290–299 (2018). Doi: 10.1007/s10930-018-9775-9.

107. Syller, J. Molecular and biological features of Umbraviruses, the unusual plant viruses lacking genetic information for a capsid protein. *Physiol Mol Plant Pathol* **63**, 35–46 (2003). Doi: 10.1016/j.pmpp.2003.08.004.
108. Zhang, J., Liu, X., Li, W., Zhang, J., Xiao, Z., Zhou, Z., Liu, T., Liu, Y., Wang, F., Zhang, S. & Yang, J. Rapid detection of *Milk vetch dwarf virus* by loop-mediated isothermal amplification. *J Virol Methods* **261**, 147–152 (2018). Doi: 10.1016/j.jviromet.2018.08.012.
109. Yang, J. G., Wang, S. P., Liu, W., Li, Y., Shen, L. L., Qian, Y. M., Wang, F. L. & Du, Z. G. First report of *Milk vetch dwarf virus* associated with a disease of *Nicotiana tabacum* in China. *Plant Disease* vol. 100 Preprint at <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1295-PDN> (2016). Doi: 10.1094/PDIS-11-15-1295-PDN.
110. *Applied Plant Virology: Advances, Detection, and Antiviral Strategies*. (2020).
111. Ding, X. S., Liu, J., Cheng, N. H., Folimonov, A., Hou, Y. M., Bao, Y., Katagi, C., Carter, S. A. & Nelson, R. S. *The Tobacco mosaic virus 126-kDa Protein Associated with Virus Replication and Movement Suppresses RNA Silencing*. / *583 MPMI* vol. 17 (2004). Doi: 10.1094/MPMI.2004.17.6.583.
112. Höller, K., Király, L., Künstler, A., Müller, M., Gullner, G., Fatteringer, M., & Zechmann, B. Enhanced glutathione metabolism is correlated with sulfur-induced resistance in Tobacco mosaic virus-infected genetically susceptible *Nicotiana tabacum* Plants. *Mol Plant Microbe Interact* **23**, 1448–1459 (2010). Doi: 10.1094/MPMI.
113. Das, P. P., Lin, Q. & Wong, S. M. Comparative proteomics of *Tobacco mosaic virus*-infected *Nicotiana tabacum* plants identified major host proteins involved in photosystems and plant defence. *J Proteomics* **194**, 191–199 (2019). Doi: 10.1016/j.jprot.2018.11.018.
114. Wilhelmová, N., Procházková, D., Šindelářová, M. & Šindelář, L. Photosynthesis in leaves of *Nicotiana tabacum* L. infected with *Tobacco mosaic virus*. *PHOTOSYNTHEtica* vol. 43 (2005).
115. Liu, D., Zhao, Q., Cheng, Y., Li, D., Jiang, C., Cheng, L., Li, D., Jiang, C., Cheng, L., Wang, Y. & Yang, A. Transcriptome analysis of two cultivars of Tobacco in response to *Cucumber mosaic virus* infection. *Sci Rep* **9**, (2019). Doi: 10.1038/s41598-019-39734-w.
116. Lu, J., Du, Z. X., Kong, J., Chen, L. N., Qiu, Y. H., Li, G. F., Meng, X. H. & Zhu, S. F. Transcriptome Analysis of *Nicotiana tabacum* infected by *Cucumber mosaic virus* during systemic symptom development. *PLoS One* **7**, e43447 (2012). Doi: 10.1371/journal.pone.0043447.
117. Mochizuki, T. & Ohki, S. T. *Cucumber mosaic virus*: Viral genes as virulence determinants. *Mol Plant Pathol* **13**, 217–225 (2012). Doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00749.x.
118. Velasquez, N., Hossain, M. J. & Murphy, J. F. Differential disease symptoms and full-length genome sequence analysis for three strains of *Tobacco etch virus*. *Virus Genes* **50**, 442–449 (2015). Doi: 10.1007/s11262-014-1146-9.
119. Tribodet, M., Glais, L., Kerlan, C. & Jacquot, E. Characterization of *Potato virus Y* (PVY) molecular determinants involved in the vein necrosis symptom induced by PVYN isolates in infected *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi. *Journal of General Virology* **86**, 2101–2105 (2005). Doi: 10.1099/vir.0.80926-0.
120. Chen, S., Li, F., Liu, D., Jiang, C., Cui, L., Shen, L., Liu, G. & Yang, A. Dynamic expression analysis of early response genes induced by *Potato virus Y* in PVY-resistant *Nicotiana tabacum*. *Plant Cell Rep* **36**, 297–311 (2017). Doi: 10.1007/s00299-016-2080-1.
121. Synková, H., Semorádová, Š., Schnablová, R., Müller, K., Pospíšilová, J., Ryšlavá, H., Malbeck, J. & Čerovská, N. Effects of biotic stress caused by *Potato virus Y* on photosynthesis in *ipt* transgenic and control *Nicotiana tabacum* L. *Plant Science* **171**, 607–616 (2006). Doi: 10.1016/j.plantsci.2006.06.002.

122. Mayunga, D. S. & Kapooria, R. G. *Incidence and identification of virus diseases of Tobacco in three provinces of Zambia*. (2003). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. Report
123. Gonzalez-Jara, P., Tenllado, F., Martínez-García, B., Atencio, F. A., Barajas, D., Vargas, M., Diaz-Ruiz, J. & Díaz-Ruiz, J. R. Host-dependent differences during synergistic infection by Potyviruses with *Potato virus X*. *Mol Plant Pathol* **5**, 29–35 (2004). Doi: 10.1111/j.1364-3703.2004.00202.x.
124. Senanayake, D. M. J. B. & Mandal, B. Expression of symptoms, viral coat protein and silencing suppressor gene during mixed infection of a N–Wi strain of *Potato virus Y* and an asymptomatic strain of *Potato virus X*. *Virusdisease* **25**, 314–321 (2014). Doi: 10.1007/s13337-014-0204-1.
125. Sheng, Y., Yang, L., Li, C., Wang, Y. & Guo, H. Transcriptomic changes in *Nicotiana tabacum* leaves during mosaic virus infection. *3 Biotech* **9**, 1–13 (2019). Doi: 10.1007/s13205-019-1740-6.
126. Sarwar, M. *Mite (Acari Acarina) vectors involved in transmission of plant viruses*. *Applied Plant Virology* (INC, 2020). Doi:10.1016/b978-0-12-818654-1.00020-7.
127. Herrbach, E. & Chesnais, Q. *Vector transmission of plant viruses*. *Encyclopedia of Virology* vol. 3 (2021). Doi: 10.1016/b978-0-12-809633-8.21349-6.
128. Shi, X., Zhang, Z., Zhang, C., Zhou, X., Zhang, D., & Liu, Y. The molecular mechanism of efficient transmission of plant viruses in variable virus–vector–plant interactions. *Hortic Plant J* **7**, 501–508 (2021). Doi: 10.1016/j.hpj.2021.04.006.
129. Singh, S., Awasthi, L. P., Jangre, A. & Nirmalkar, V. K. *Transmission of plant viruses through soil-inhabiting nematode vectors*. *Applied Plant Virology* (INC, 2020). Doi:10.1016/b978-0-12-818654-1.00022-0.
130. Nie, X., Singh, M., Chen, D., Gilchrist, C., Soqrat, Y., Shukla, M., Creelman, A., Dickison, V., Nie, B., Lavoie, J. & Bisht, V. Development of High-Resolution DNA melting analysis for simultaneous detection of *Potato mop-top virus* and its vector *Spongospora subterranea*, in Soil. *Plant Dis* **105**, 948–957 (2021). Doi: 10.1094/PDIS-06-20-1321-RE.
131. Turan, V., Verma, S., Sharma, P., Katna, S. & Dev, B. Major vectors of the plant viruses: a review. *J Entomol Zool Stud* **8**, 1365–1370 (2020).
132. Whitfield, A. E., Falk, B. W. & Rotenberg, D. Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology* **479–480**, 278–289 (2015). Doi: 10.1016/j.virol.2015.03.026.
133. Ziegler-Graff, V. Molecular insights into host and vector manipulation by plant viruses. *Viruses* **12**, (2020). Doi: 10.3390/v12030263.
134. Pinheiro-Lima, B., Pereira-Carvalho, R. C., Alves-Freitas, D. M., Kitajima, E. W., Vidal, A. H., Lacorte, C., Godinho, M. T., Fontenele, R. S., Faria, J. C., Abreu, E. F. M., Varsani, A., Ribeiro, S. G. & Melo, F. L. Transmission of the Bean-Associated Cytorhabdovirus by the Whitefly *Bemisia tabaci* MEAM1. *Viruses* **12**, (2020). Doi: 10.3390/v12091028.
135. Fereres, A. & Raccach, B. Plant virus transmission by insects. *eLS* 1–12 (2015) Doi: 10.1002/9780470015902.a0000760.pub3.
136. Fiallo-Olivé, E. & Navas-Castillo, J. *Tomato chlorosis virus*, an emergent plant virus still expanding its geographical and host ranges. *Mol Plant Pathol* **20**, 1307–1320 (2019). Doi: 10.1111/mpp.12847.
137. Asadhi, S., Padmavati, S., Visvavidyalayam, M., Yeturu, S. & Usha, R. Partial Characterization of Replicase Gene of *Tobacco streak ilarvirus* in Onion (*Allium cepa*.L). *Article in International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* (2015).
138. Gaafar, Y. Z. A. *et al.* *Caraway yellows virus*, a novel Nepovirus from *Carum carvi*. *Virol J* **16**, 4–9 (2019). Doi: 10.1186/s12985-019-1181.

139. Dietzgen, R. G., Mann, K. S. & Johnson, K. N. Plant virus-insect vector interactions: Current and potential future research directions. *Viruses* **8**, 1–21 (2016). Doi: 10.3390/v8110303.
140. Güneş, N., Türkseven, S. G., Özşari, pınar, Gümüş, mustafa & Baysal Sivritepe, D. Incidence and possible sources of *Tomato spotted wilt virus* in Tobacco grown in Denizli Province, Turkey. *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca* **50**, 12529 (2022). Doi: 10.15835/nbha50212529.
141. Gunay, A. & Usta, M. *First investigation of five Tobacco viruses using PCR based methods in tobacco plants grown in Adiyaman, Turkey.* (2020). Report.
142. Ding, M., Yang, C., Zhang, L., Jiang, Z. L., Fang, Q., Qin, X. Y., & Zhang, Z. K. Occurrence of *Chilli veinal mottle virus* in *Nicotiana tabacum* in Yunnan, China. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-10-0686> **95**, 357 (2011).
143. Khateri, H., Moarrefzadeh, N., Koochi-Habibi, M., Mosahebi, G., Hosseini, A., & Hamzeh, N. High incidence of *Tobacco streak virus* in the tobacco fields of Iran. *Commun Agric Appl Biol Sci* **71**, 1213–1216 (2006).
144. Delić, D., D., Balech, B., Radulović, M., Đurić, Z., Lolić, B., Santamaria, M., & Đurić, G. Molecular identification of *Tomato spotted wilt virus* on pepper and Tobacco in Republic of Srpska (Bosnia and Herzegovina). *Eur J Plant Pathol* **150**, 785–789 (2018). Doi: 10.1007/s10658-017-1313-7.
145. Chatzivassiliou, E. K., Efthimiou, K., Drossos, E., Papadopoulou, A., Poimenidis, G., & Katis, N. I. A survey of tobacco viruses in tobacco crops and native flora in Greece. *Eur J Plant Pathol* **110**, 1011–1023 (2004). Doi: 10.1007/s10658-004-1598-1.
146. Kumlachew, A. Detection of diseases, identification and diversity of viruses: A Review. *J Biol Agric Healthc* **5**, 204–214 (2015).
147. Rubio, L., Galipienso, L. & Ferriol, I. Detection of plant viruses and disease management: relevance of genetic diversity and evolution. *Front Plant Sci* **11**, 1092 (2020). Doi: 10.3389/fpls.2020.01092.
148. Fang, Y. & Ramasamy, R. P. Current and prospective methods for plant disease detection. *Biosensors (Basel)* **5**, 537–561 (2015). Doi: 0.3390/bios5030537.
149. Mehetre, G. T. *et al.* Current developments and challenges in plant viral diagnostics: A systematic review. *Viruses* **13**, 1–31 (2021). Doi: 0.3390/bios5030537.
150. Bhat, A. I. & Rao, G. P. Polymerase Chain Reaction. in *Characterization of Plant Viruses, Springer Protocols Handbooks* 323–346 (2020). Doi:10.1007/978-1-0716-0334-5_7.
151. Serçe, Ç. U. & Ayyaz, M. Diagnosis of the casual viruses of crop plants. in *Applied Plant Virology: Advances, Detection, and Antiviral Strategies* 55–67 (2020). Doi:10.1016/B978-0-12-818654-1.00004-9.
152. Kumar, R., Kaundal, P., Tiwari, R. K., Lal, M. K., Kumari, H., Kumar, R., Chandra Naga, K., Kumar, A., Singh, B., Sagar, V. & Sharma, S. Development of Reverse Transcription Recombinase Polymerase Amplification (RT-RPA): A methodology for quick diagnosis of Potato leafroll viral disease in potato. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol. 24, Page 2511 **24**, 2511 (2023). Doi: 10.3390/ijms24032511.
153. Pallás, V., Sánchez-Navarro, J. A. & James, D. Recent advances on the multiplex molecular detection of plant viruses and viroids. *Front Microbiol* **9**, 1–11 (2018). Doi: 10.3389/fmicb.2018.02087.
154. Letschert, B., Adam, G., Lesemann, D. E., Willingmann, P. & Heinze, C. Detection and differentiation of serologically cross-reacting Tobamoviruses of economical importance by RT-PCR and RT-PCR-RFLP. *J Virol Methods* **106**, 1–10 (2002). Doi: 10.1016/S0166-0934(02)00135-0.

155. Liu, F., Tan, G., Li, X., Chen, H., Li, R., & Li, F. Simultaneous detection of four causal agents of Tobacco bushy top disease by a multiplex one-step RT-PCR. *J Virol Methods* **205**, 99–103 (2014). Doi: 10.1016/j.jviromet.2014.05.003.
156. Chalam, V. C., Sharma, V. D., Sharma, R. & Maurya, A. K. Modern technologies for the diagnosis and assay of plants viruses. in *Applied Plant Virology: Advances, Detection, and Antiviral Strategies* 69–77 (INC, 2020). Doi:10.1016/B978-0-12-818654-1.00005-0.
157. Lee, H. J., Cho, I. S., Ju, H. J. & Jeong, R. D. Rapid and visual detection of *Tomato spotted wilt virus* using recombinase polymerase amplification combined with lateral flow strips. *Mol Cell Probes* **57**, 1–4 (2021). Doi: 10.1016/j.mcp.2021.101727.
158. Rasni, W. H. N. W., Yahaya, N. & Mohamed Rehan, M. Recombinase polymerase amplification and their application in phytopathogen detection. *Malaysian Journal of Science Health & Technology* **8**, 14–24 (2022). Doi: 10.33102/2022254.
159. Panno, S., Matic, S., Tiberini, A., Caruso, A. G., Bella, P., Torta, L., Stassi, R. & Davino, S. Loop mediated isothermal amplification: Principles and applications in plant virology. *Plants* **9**, 1–28 (2020). Doi: 10.3390/plants9040461.
160. Soroka, M., Wasowicz, B. & Rymaszewska, A. Loop-mediated isothermal amplification (Lamp): The better sibling of PCR? *Cells* **10**, (2021). Doi: 10.3390/cells10081931.
161. Budziszewska, M., Wieczorek, P. & Obrepalska-Stepłowska, A. One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) for detection of *Tomato torrado virus*. *Arch Virol* **161**, 1359–1364 (2016). Doi: 10.1007/s00705-016-2774-2.
162. Zhang, C., Liu, S., Li, X., Zhang, R. & Li, J. Virus-Induced Gene Editing and Its Applications in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 23 Preprint at <https://doi.org/10.3390/ijms231810202> (2022).
163. Kalinina, N. O., Khromov, A., Love, A. J. & Taliansky, M. E. CRISPR applications in plant virology: Virus resistance and beyond. *Phytopathology* **110**, 18–28 (2020). Doi: 10.1094/PHYTO-07-19-0267-IA.
164. Mahas, A., Hassan, N., Aman, R., Marsic, T., Wang, Q., Ali, Z., & Mahfouz, M. M. Lamp-coupled CRISPR–CAS12a module for rapid and sensitive detection of plant DNA viruses. *Viruses* **13**, (2021). Doi: 10.3390/v13030466.
165. Rott, M., Xiang, Y., Boyes, I., Belton, M., Saeed, H., Kesanakurti, P., Hayes, S., Lawrence, T., Birch, C., Bhagwat, B. & Rast, H. Application of next generation sequencing for diagnostic testing of tree fruit viruses and viroids. *Plant Dis* **101**, 1489–1499 (2017). Doi: 10.1094/PDIS-03-17-0306-RE
166. Adams, I. & Fox, A. Diagnosis of Plant Viruses Using Next- Generation Sequencing and Metagenomic Analysis. in *Current Research Topics in Plant Virology* 323–335 (2016). Doi:10.1007/978-3-319-32919-2.
167. Barba, M., Czosnek, H. & Hadidi, A. Historical perspective, development and applications of next-generation sequencing in plant virology. *Viruses* **6**, 106–136 (2014). Doi: 10.3390/v6010106.
168. Pecman, A., Kutnjak, D., Gutiérrez-Aguirre, I., Adams, I., Fox, A., Boonham, N., & Ravnkar, M. Next generation sequencing for detection and discovery of plant viruses and viroids: Comparison of two approaches. *Front Microbiol* **8**, 1–10 (2017). Doi: 10.3389/FMICB.2017.01998/FULL.
169. Pappas, N. *et al.* Virus Bioinformatics. in *Encyclopedia of Virology* 124–132 (Elsevier, 2021). Doi:10.1016/b978-0-12-814515-9.00034-5.

Received: 28 September 2023/ Accepted: 15 November 2023 / Published:15 December 2023

Citation: Ganchozo-Mendoza, E., Flores, F.J., Garcés-Fiallos, F.R. Virosis en el cultivo de tabaco. *Revis Bionatura* 2023; 8 (4) 30. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.04.30>

Additional information Correspondence should be addressed to felipe.garces@utm.edu.ec

Peer review information. Bionatura thanks anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>

All articles published by Bionatura Journal are made freely and permanently accessible online immediately upon publication, without subscription charges or registration barriers.

Bionatura ISSN. 13909355. **Scopus coverage years:** from 2016 to the Present

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2023 by the authors. They were submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).