

El virus del fruto pardo y rugoso del tomate (*Tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV*)

Eduardo Méndez-López y Miguel A. Aranda



Joan Bernabé-Orts, Covadonga Torre, Ginés Gil
y Yolanda Hernando



El virus del fruto pardo y rugoso del tomate (*Tomato brown rugose fruit virus*, ToBRFV)

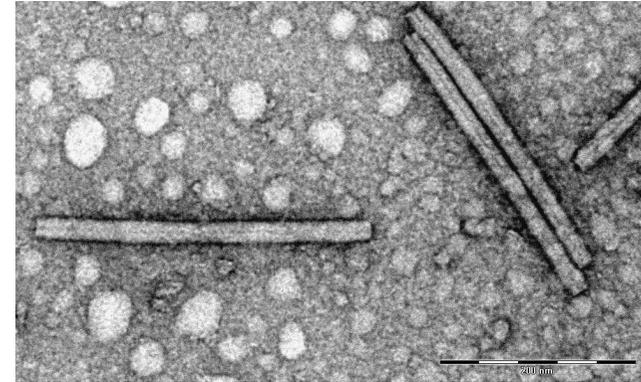
1. Descripción básica, presencia en el mundo
2. Síntomas
3. Epidemiología
4. Diagnóstico
5. Perspectivas

ToBRFV: Descripción básica, presencia en el mundo

Género *Tobamovirus*, más de 30 especies



- > Transmitidos por contacto mecánico y por la semilla.
- > Muy persistentes en el suelo y en superficies (incluyendo herramientas de cultivo).
- > Gama de hospedadores estrecha.
- > Niveles de acumulación muy altos en sus hospedadores.
- > Hay resistencias monogénicas y dominantes, incluyendo Tm22 y L4



Tobacco mosaic virus (TMV)

Tomato mosaic virus (ToMV)

Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)

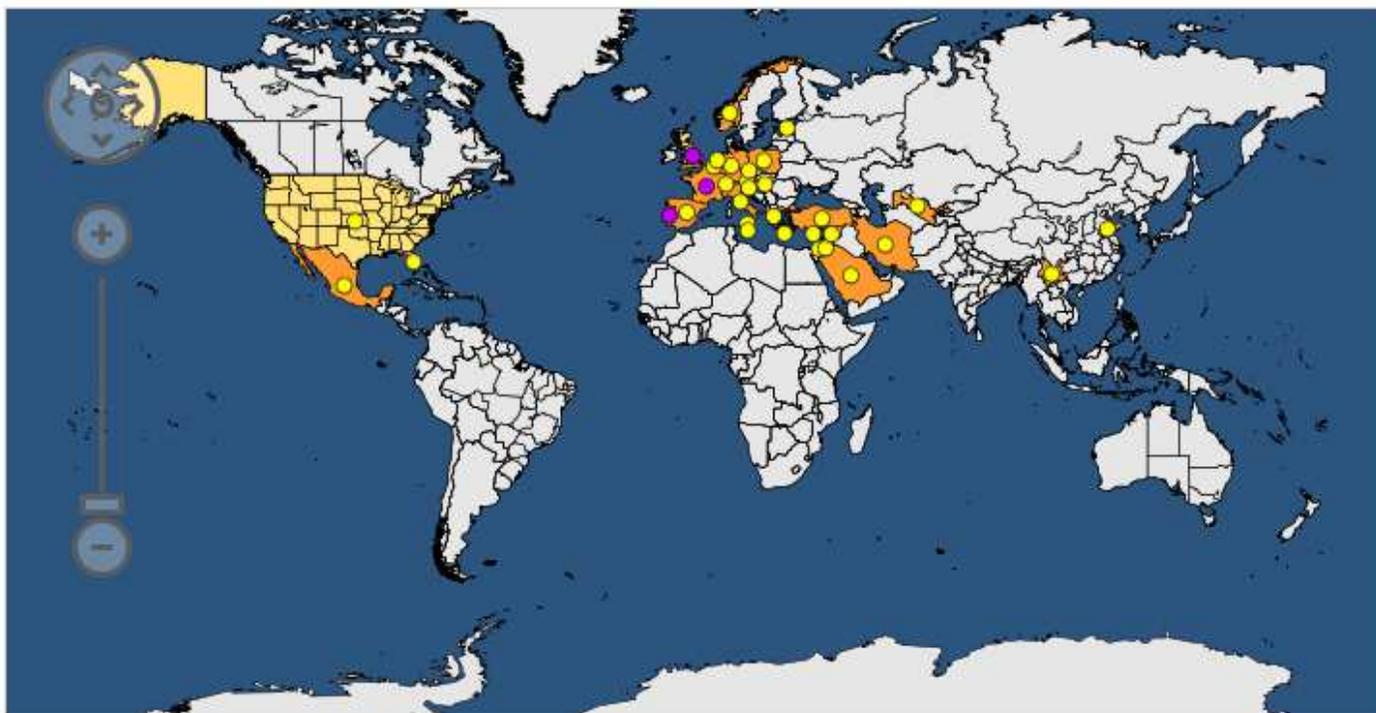
Tomato mottle mosaic virus (ToMMV)

Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)

Pepper mild mottle virus (PMMoV)

Paprika mild mottle virus (PaMMV)

ToBRFV: Descripción básica, presencia en el mundo



- Jordania, 2015
- Israel, 2014. Supera Tm22
- Alemania, Italia, Holanda, Grecia, México, UK, España, etc.
- En España, en Vicar en 2019
- En Murcia, en Cañada de Gallego en 2021

EPPO, Nov 2021

ToBRFV: Síntomas

En hojas: Mosaicos acusados, abullonado, deformaciones, ocasionalmente filimorfismo y manchas necroticas



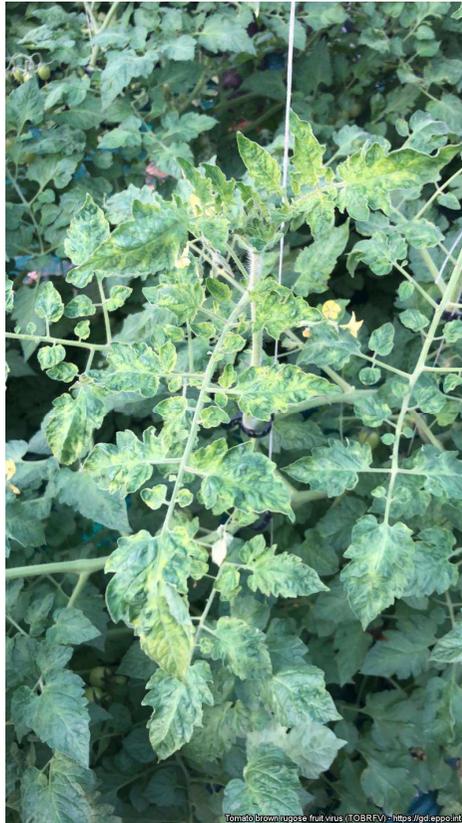
ToBRFV: Síntomas

En hojas: Mosaicos acusados, abullonado, deformaciones, ocasionalmente filimorfismo y manchas necroticas



ToBRFV: Síntomas

En hojas: Mosaicos acusados, abullonado, deformaciones, ocasionalmente filimorfismo y manchas necroticas



Base de datos de EPPO

ToBRFV: Síntomas

En hojas: Mosaicos acusados, abullonado, deformaciones, ocasionalmente filimorfismo y manchas necroticas



Base de datos de EPPO

ToBRFV: Síntomas

En frutos: Distribución irregular de pigmentos, marmoleo, necrosis ocasional



ToBRFV: Síntomas

En frutos: Distribución irregular de pigmentos, marmoleo, necrosis ocasional



ToBRFV: Síntomas

En frutos: Distribución irregular de pigmentos, marmoleo, necrosis ocasional



Base de datos de EPPO

ToBRFV: Síntomas

En frutos: Distribución irregular de pigmentos, marmoleo, necrosis ocasional



Base de datos de EPPO

ToBRFV: Síntomas

Marchiteces y necrosis local o generalizada



ToBRFV: Síntomas

Marchiteces y necrosis local o generalizada



Base de datos de EPPO

ToBRFV: Síntomas

Síntomas, ¿con qué me quedo?



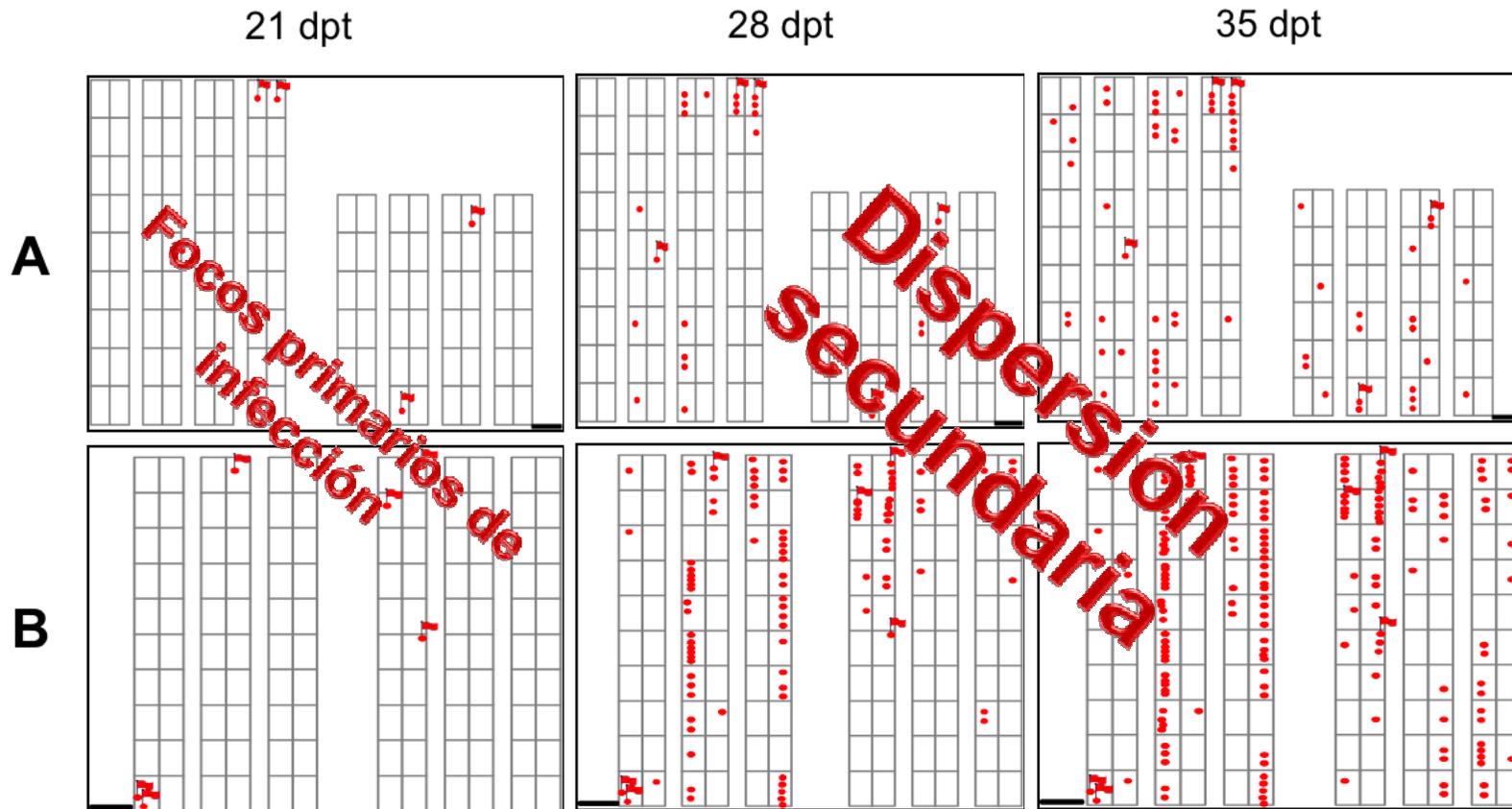
ToBRFV: Epidemiología

Condicionantes epidemiológicos:

- Transmitido por semilla.
- Transmitido mecánicamente, muy contagioso.
- Muy persistente.
- Escandaloso: Síntomas agresivos, aunque a veces poco específicos y dependientes de condiciones ambientales y variedad.
- Desarrollo de síntomas y acumulación del virus: En planta joven, 6-10 días para que se vea mosaico. A los 4-5 días ya se ha hecho sistémico. Puede haber un periodo de 2-5 de "contagiosidad no advertida".
- En infecciones establecidas, la acumulación del virus en la planta puede ser muy alta (1g/Kg).

ToBRFV: Epidemiología

CGMMV en pepino > tobamovirus, epidemiológicamente muy parecido a ToBRFV



Factores epidemiológicos

Fuentes de inóculo primario:

Plantón (semilla? contaminación en semillero?)

Cuadrillas

(Suelo, en parcelas con infecciones anteriores)

(Malas hierbas, cuando ha habido infecciones anteriores)

Dispersión secundaria:

Instrumentos de poda y manipulaciones

Contacto entre plantas (sin olvidar las raíces)

Insectos polinizadores

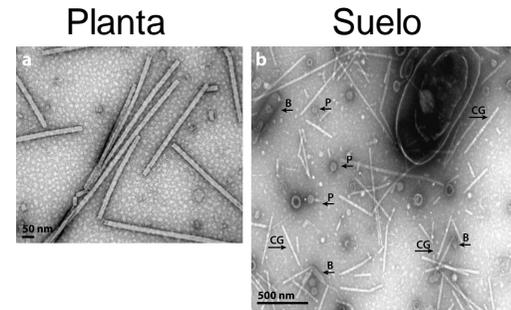
Actuaciones para evitar focos primarios de infección



Semilla certificada
Desinfección de semilla
Plantas madre sanas



Semilleros responsables
Cuidado en el transporte!!



Dombrovsky A, et al. 2017.
Annu. Rev. Phytopathol. 55:231-56

Solarización
Desinfección puntual
Reutilización de sacos



Desinfección de instrumentos
Higiene cuadrillas



Chenopodium murale



Solanum nigrum



Nicotiana glauca

Malas hierbas

Actuaciones epidemiológicas

Fuentes de inóculo primario:

Semilla

Plantón

Suelo

Instrumentos de poda y manipulaciones

Malas hierbas

Dispersión secundaria:

Instrumentos de poda y manipulaciones

Insectos polinizadores

Actuaciones para controlar la dispersion secundaria



Vigilancia



Eliminar las plantas con síntomas
OJO a cómo se hace!



Desinfección de instrumentos
Higiene cuadrillas
Desinfección de suelo



Diagnóstico!!!!!!
Consejo del Patólogo!!!!!!



Polinizadores

ToBRFV: Diagnóstico

El diagnóstico es imprescindible, los síntomas a menudo son poco específicos y dependientes de variedad y condiciones ambientales

RT-qPCR: PCR cuantitativa a tiempo real

- Identifica material genético del virus.
- Variedad de protocolos y "primers", sólo algunos reconocidos oficialmente: primers CATA 28 (Enza Zaden) y CSP1325 (CSP Labs).
- En teoría, es un método muy sensible.
- En teoría, es un método muy específico, sobre todo si usa tecnología "TaqMan".
- Los laboratorios a veces dan una "medida", los ciclos a los que se detecta el virus o Cts, que es contra-intuitiva. A más ciclos, menos virus.
- Es caro.

ELISA

- Identifica la partícula viral.
- Entre 100 y 1000 veces menos sensible que la RT-qPCR.
- Los anticuerpos policlonales no son específicos, pero si pueden determinar si hay tobamovirus.
- Que yo sepa, sólo hay dos anticuerpos monoclonales (Agdia y Abiopep). El de Abiopep es específico y sensible.
- Es barato.

ToBRFV: Diagnóstico

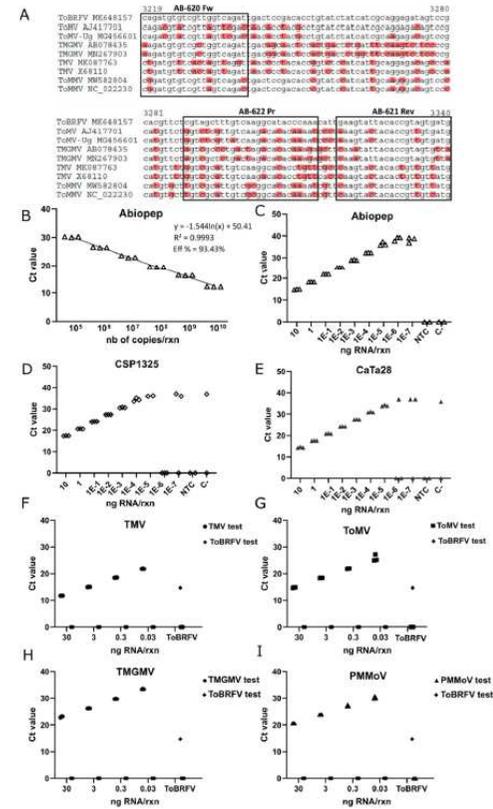
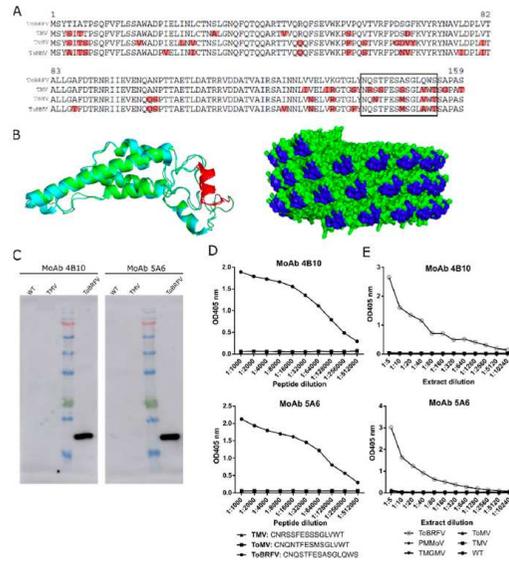
El diagnóstico es imprescindible, los síntomas a menudo son poco específicos y dependientes de variedad y condiciones ambientales



Article

New Resources for the Specific and Sensitive Detection of the Emerging Tomato Brown Rugose Fruit Virus

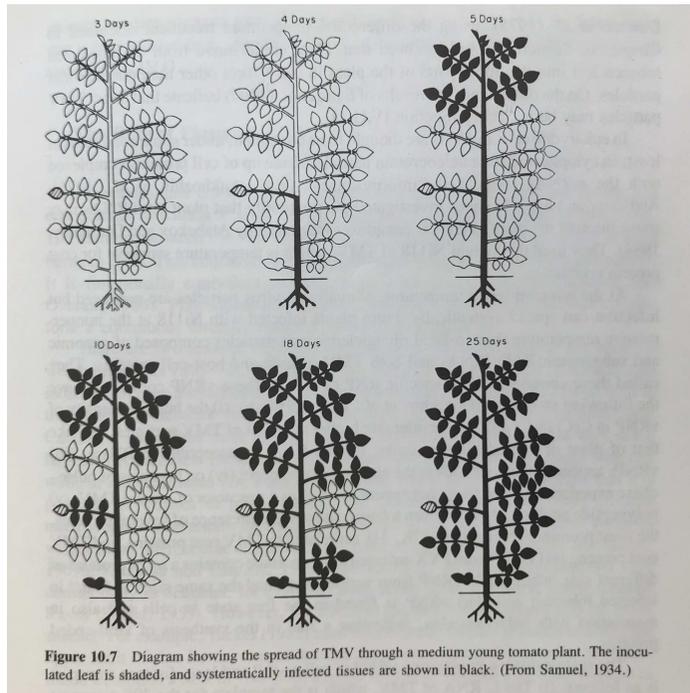
Joan Miquel Bernabé-Orts ¹, Covadonga Torre ¹, Eduardo Méndez-López ², Yolanda Hernando ¹ and Miguel A. Aranda ^{2,*}



ToBRFV: Diagnóstico

El muestreo y la calidad de las muestras, críticos para un diagnóstico acertado

¿Qué parte de la planta muestrear?



Positivo claro



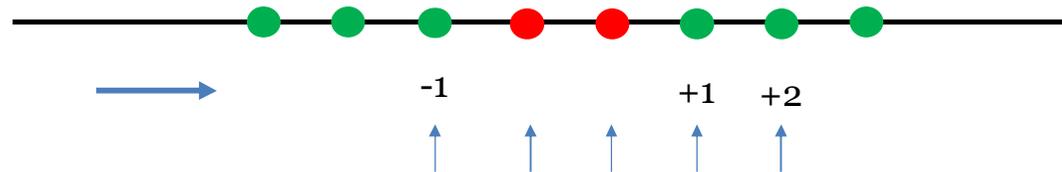
Baja
concentración
de virus

Negativo

ToBRFV: Diagnóstico

El muestreo y la calidad de las muestras, críticos para un diagnóstico acertado

¿Qué plantas muestrear?



¿Cómo conservar las muestras hasta que lleguen al laboratorio?

- > Para RT-qPCR, en frío, cuidando de que no se congelen
- > Para ELISA, a temperatura ambiente (<math><35^{\circ}\text{C}</math>), cuidando de que no se deshidraten o pudran

¿Qué resultados se pueden esperar?

- > Para RT-qPCR, positivo ($\text{Ct} < 30$), negativo ($\text{Ct} > 35$), **dudoso** ($35 > \text{Ct} > 30$).
- > Para ELISA, positivo ($\text{OD} > 3 \times$ control negativo), negativo ($\text{OD} < 2 \times$ control negativo), **dudoso** ($3 \times > \text{OD} > 2 \times$).

Perpectivas

Resistencia genética: Característica o conjunto de características heredables que conducen a la supresión o disminución del desarrollo de un potencial patógeno en las condiciones más favorables para que éste ocurra.

Resistencias a tobamovirus en tomate: *Tm1*, *Tm2*, *Tm2²*

¿Hay resistencias a la vista?: Si, al menos dos fuentes de resistencia oligogénica; al menos una fuente de resistencia monogénica dominante.

Decisiones informadas: Vigilancia. Diagnóstico y asesoramiento. Informar y actuar según el plan de acción al respecto.

GRACIAS POR SU ATENCIÓN!