

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

**“Diversidad del *Tobamovirus fructirugosum* y
respuesta de *Solanum melongena* L., ante la
infección”**

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL



Presenta:

RUBÉN RUVALCABA RAMÍREZ

Bajo la supervisión de:

DR. CAMILO HERNÁNDEZ JUÁREZ

CO-DIRECTORA: ALFONSINA JUDITH HERNÁNDEZ



Chapingo, Estado de Mexico, mayo de 2026

DIVERSIDAD DEL *Tobamovirus fructirugosum* Y RESPUESTA DE *Solanum melongena* L., ANTE LA INFECCIÓN

Tesis realizada por RUBÉN RUVALCABA RAMÍREZ bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



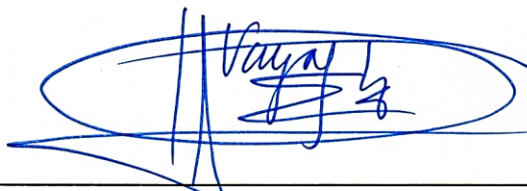
DR. CAMILO HERNÁNDEZ JUÁREZ

CO-DIRECTORA:



M.C. ALFONSINA JUDITH HERNÁNDEZ

ASESOR:



DR. MATEO VARGAS HERNÁNDEZ

DEDICATORIA

A **mi familia**, gracias por enseñarme el valor del esfuerzo, la disciplina y la constancia, y por recordarme siempre de dónde vengo y hacia dónde puedo llegar. Cada logro alcanzado es también reflejo de su sacrificio a lo largo de los años. A ustedes, que han sido mi base, mi motivación y mi impulso para seguir adelante, les dedico este logro con profundo agradecimiento y cariño. Los quiero mucho **Ma. Del Rosario, Rubén, Elizabeth, Abigail, Saulo y José.**

AGRADECIMIENTOS

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)** por otorgarme el financiamiento para realizar mis estudios de maestría en ciencias.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, por permitirme una vez más ser parte de esta noble institución a través de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal.

A mi **Apá**, por todo lo que has hecho por mí. Siempre has estado presente en mi vida, brindándome sabiduría y apoyo. Tus palabras y acciones han dejado una huella profunda en mi corazón, y siempre te llevaré conmigo.

A **Libia**, no hay palabras suficientes para expresar lo agradecido que estoy de tenerte en mi vida. Has sido un apoyo constante en cada momento, la persona con la que puedo contar sin dudar y quien me impulsa a seguir adelante. Gracias por caminar conmigo, por escucharme, por sostenerme cuando lo necesitaba y por ser, al mismo tiempo, mi compañera, mi amiga y mi amor.

Al **Dr. Camilo**, por su guía, apoyo y paciencia, incluso frente a mis experimentos poco convencionales, ha sido fundamental a lo largo de este proceso. Agradezco profundamente su disposición para enseñar, su compromiso con mi desarrollo profesional y la confianza depositada en mí.

A la **M.C. Alfonsina**, por la gran oportunidad que me brindó al abrirme las puertas de su laboratorio y, aún más, por mantenerlas siempre abiertas. Fue un honor haber coincidido con usted en este camino; su confianza, apoyo y disposición han sido fundamentales en mi formación. Sin duda alguna, su ejemplo profesional y calidad humana dejan una huella importante en mi desarrollo, por lo cual le expreso mi más sincero agradecimiento.

Al **Dr. Mateo**, por su disposición, el tiempo dedicado y su asesoría, sin los cuales este logro no habría sido posible. Agradezco profundamente su apoyo a lo largo de este proceso.

A la **Dra. Libia** y al **Dr. Fernando**, porque sin todo su apoyo previo este logro no habría sido posible. Agradezco profundamente el tiempo y la sabiduría que compartieron conmigo, los cuales han marcado una diferencia significativa en mi formación y en el camino recorrido.

A mis compañeros de la Maestría en Protección Vegetal, por compartir este camino y hacer más llevadera esta etapa. En especial, a **las Señoras**, por su amistad, compañía y por contribuir a que mi estancia durante la maestría fuera más amena.

Por último, y no menos importante, a **Doña Maribel**, por todo su apoyo y por recordarnos que el trabajo no solo se hace, sino que se hace con gusto. Gracias por recibirnos siempre de la mejor manera y por su calidez en cada momento.

DATOS BIOGRÁFICOS

Nombre: Rubén Ruvalcaba Ramírez

Fecha de nacimiento: 03 de diciembre de 1998

Lugar de nacimiento: Tabasco, Zacatecas

CURP: RURR981203HZSVMB07

Profesión: Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología
Agrícola

Cédula profesional: 13685965



FORMACIÓN ACADÉMICA Y PROFESIONAL

Entre 2017 y 2021 cursó la licenciatura en el Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, donde obtuvo el título de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola. Su trabajo se enfocó en el estudio de la relación entre un Orthotospovirus y la mancha anular presente en frutos de tomate de cáscara (*Physalis philadelphica* Lam.) en Tabasco, Zacatecas. Más adelante, adquirió experiencia como técnico de laboratorio en Colegio de Postgraduados. Con el objetivo de ampliar su preparación científica, en 2024 inició sus estudios de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
ÍNDICE DE CUADROS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS	9
RESUMEN GENERAL	15
ABSTRACT	17
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	19
1.1 ANTECEDENTES	19
1.1.1 Origen del Tobamovirus fructirugosum.....	19
1.1.2 Taxonomía del T. fructirugosum.	19
1.1.3 Descripción del virión T. fructirugosum	20
1.1.4 Sintomatología.....	21
1.1.5 Rango de hospedantes	21
1.2 IDENTIFICACIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.....	23
1.3 REFERENCIAS.....	26
CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA	31
2.1 HISTORIA	31
2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	32
2.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	32
2.4 SINTOMATOLOGÍA.....	33
2.4.1 Ciclo de multiplicación.....	34
2.4.2 Interacción Tobamovirus-Planta.....	35
Efectores virales que inducen la defensa de la planta (MAMP, microbe-associated molecular patterns)	
o factores de avirulencia (Avr)	35
Respuesta de la planta ante el reconocimiento de efectores	36
Respuesta del virus ante la defensa de la planta	39
2.5 ESTRUCTURA DEL VIRUS	40
2.5.1 Genoma y mapa genético	41
Estructura 7-metilguanosina cap	43
Elemento omega	44
Open Reading Frame 1	45
Open Reading Frame 2	46

Open Reading Frame 3	46
Open Reading Frame 4	46
NTR.....	46
RNA subgenómicos virales	47
2.5.2 <i>Proteínas codificadas en el genoma viral</i>	47
Dominio metiltransferasa (Mtr)	47
Dominio helicasa (Hel)	47
RNA polimerasa RNA dependiente (RdRp).....	48
Proteína de Movimiento (MP)	48
Proteína de cápside (CP)	49
2.5.3 <i>Estabilidad y variabilidad de los ORFs</i>	49
2.6 RELACIONES FILOGENÉTICAS.....	49
2.7 PRINCIPALES MÉTODOS DE DETECCIÓN	52
2.7.1 <i>Biológicos (hospedantes experimentales)</i>	52
2.7.2 <i>Métodos serológicos: ELISA e ImmunoStrips</i>	53
2.7.3 <i>Detección basada en el genoma</i>	54
RT-PCR convencional	55
Filogenia.....	56
RT-PCR cuantitativa.....	58
RT-qPCR múltiple.....	60
2.8 EPIDEMIOLOGÍA.....	61
2.8.1 <i>Patógeno</i>	62
Inóculo viral.....	62
Alteraciones en el metabolismo celular del hospedero.....	63
Evasión de la resistencia mediada por Tm-2 ²	64
2.8.2 <i>Hospedante</i>	65
2.8.3 <i>Ambiente</i>	66
Temperatura	66
Luz solar	67
Humedad relativa.....	68
Prácticas antropocéntricas que favorecen el desarrollo de la epidemia	68
2.9 MANEJO.....	69
2.9.1 <i>Prevención</i>	69
2.9.2 <i>Control legal</i>	71
2.9.3 <i>Control genético</i>	72
2.9.4 <i>Monitoreo y diagnóstico</i>	78
2.9.5 <i>Erradicación</i>	80

2.9.6	<i>Activadores de resistencia y sanitizantes</i>	81
	Sanitización de superficies de contacto durante las labores culturales	82
2.9.7	<i>Manejo de agua, fertilización y sustratos</i>	83
	Agua	83
	Fertilización	83
	Sustrato	84
2.9.8	<i>Estrategias a futuro</i>	86
2.10	REFERENCIAS	87
CAPÍTULO 3. PRESENCIA E IDENTIDAD DE <i>TOBAMOVIRUS FRUCTIRUGOSUM</i> EN REGIONES PRODUCTORAS DE SOLÁNACEAS EN MÉXICO		111
3.1	RESUMEN	111
3.2	INTRODUCCIÓN	112
3.3	MATERIALES Y MÉTODOS	114
3.3.1	<i>Recolección de material vegetal sintomático</i>	114
3.3.2	<i>Extracción de RNA total</i>	115
3.3.3	<i>Cualificación del RNA total extraído</i>	115
3.3.4	<i>Síntesis de cDNA y amplificación por RT-PCR</i>	116
3.3.5	<i>Determinación del porcentaje de identidad de las secuencias amplificadas a partir del genoma</i>	117
3.3.6	<i>Mantenimiento de las fuentes de infección</i>	118
3.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	119
3.4.1	<i>Distribución geográfica de las fuentes de infección</i>	119
3.4.2	<i>Relación entre las muestras, localidades y hospedantes</i>	121
3.4.3	<i>Identificación mediante RT-PCR</i>	122
	Extracción de RNA total	122
	Control endógeno.....	122
	Detección específica de <i>Tobamovirus fructirugosum</i>	123
	Determinación del porcentaje de identidad de las secuencias amplificadas a partir del genoma ...	123
	Mantenimiento de las fuentes de infección	124
3.5	CONCLUSIONES	125
3.6	REFERENCIAS	126
CAPÍTULO 4. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y BIOLÓGICA DE ONCE FUENTES DE INFECCIÓN MEXICANAS DE <i>TOBAMOVIRUS FRUCTIRUGOSUM</i>		130
4.1	RESUMEN	130
4.2	INTRODUCCIÓN	131

4.3	MATERIALES Y MÉTODOS	133
4.3.1	Caracterización molecular.....	133
	Selección de oligonucleótidos y amplificación por RT-PCR.....	133
	Secuenciación	135
	Comparación en NCBI	135
	Reconstrucción filogenética	136
	Identificación de los SNPs	137
4.3.2	Caracterización biológica	138
	Purificación de Viriones	138
	Determinación de la cantidad de viriones a inocular	139
	Inoculación mecánica y respuesta de hospedantes diferenciales.....	139
4.3.3	Evaluación de la carga viral en diferentes hospedantes.....	140
4.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	142
4.4.1	Caracterización molecular.....	142
	RT-PCR.....	142
	Reconstrucción filogenética:	143
	Con la secuencia parcial que codifica para RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp)	143
	Con la secuencia parcial que codifica para proteína de movimiento (MP)	144
	Con la secuencia que codifica para proteína de cápside (CP)	145
	Con las secuencias concatenadas.....	146
	Identificación de los SNPs y la probable influencia en la traducción	150
4.4.2	Caracterización biológica de las fuentes de infección en estudio	154
	Purificación de viriones.....	154
	Determinación de la cantidad de viriones a inocular.....	155
	Inoculación de plantas diferenciales	156
	Síntomas locales	156
	Síntomas sistémicos	159
4.4.3	Evaluación de las fuentes de infección en diferentes hospedantes mediante RT-qPCR	
	163	
	Evaluación en <i>S. lycopersicum</i>	163
	Evaluación en <i>C. annuum</i>	165
	Evaluación en <i>N. occidentalis</i>	166
4.5	CONCLUSIONES	166
4.6	REFERENCIAS	169

CAPÍTULO 5. RESPUESTA DE *SOLANUM MELONGENA* L. ANTE DIVERSAS FUENTES DE INFECCIÓN DE *TOBAMOVIRUS FRUCTIRUGOSUM* BAJO INVERNADERO 175

5.1	RESUMEN	175
-----	---------------	-----

5.2	INTRODUCCIÓN	176
5.3	MATERIALES Y METODOS	178
5.3.1	<i>Lugar de experimentación</i>	178
5.3.2	<i>Material biológico</i>	178
	Variedades utilizadas	178
	Fuentes de infección	178
5.3.3	<i>Establecimiento de plantas</i>	178
	Preparación del sustrato.....	178
	Establecimiento de semilleros y trasplante	179
	Mantenimiento de plantas	179
5.3.4	<i>Inoculación de las fuentes de infección</i>	179
5.3.5	<i>Establecimiento de los ensayos</i>	179
5.3.6	<i>Determinación de la infección</i>	180
5.3.7	<i>Evaluación de la sintomatología</i>	180
5.3.8	<i>Evaluación de la biomasa</i>	180
	Análisis preliminar de promedios.....	181
	Análisis estadístico	181
5.4	RESULTADOS Y DISCUSION	181
5.4.1	<i>Bioensayo uno</i>	181
	Ciclos Ct obtenidos a partir de qPCR	181
5.4.2	<i>Bioensayo dos</i>	183
	Ciclos Ct obtenidos a partir de qPCR	183
	Síntomas.....	184
	Evaluación de la biomasa	186
	Relación promedios de biomasa-fuentes de infección	186
	Relación promedios de biomasa-variedad	187
	Análisis estadístico de las variables fuente de infección, variedad e interacción entre ellas	189
	Análisis de varianza	189
	Análisis de medias del efecto de la fuente de infección	189
	Análisis de medias del efecto de la variedad	190
	Análisis de medias del efecto de la interacción fuente-variedad	191
5.4.3	<i>Bioensayo tres</i>	194
	Ciclos Ct obtenidos a partir de qPCR	194
	Síntomas.....	195
	Evaluación de la biomasa	196
	Relación promedios de biomasa-fuentes de infección	196
	Relación promedios de biomasa- variedad.....	197
	Análisis estadístico de las variables fuente de infección, variedad e interacción entre ellas	198

	Análisis de varianza del efecto de la fuente de infección.....	198
	Análisis de medias del efecto de las fuentes de infección.....	199
	Análisis de medias del efecto de la variedad	200
	Análisis de medias del efecto de la interacción fuente de infección-variedad.....	200
5.5	CONCLUSIONES	204
5.6	REFERENCIAS	206
APÉNDICES.....		211
Apéndice A.	<i>Síntomas obtenidos en la caracterización biológica</i>	<i>211</i>
Apéndice B.	<i>Curvas de amplificación mediante qPCR para muestras de S. lycopersicum, C. annuum N. occidentalis, para distintas fuentes de infección.</i>	<i>227</i>
Apéndice C.	<i>Temperaturas imperantes sobre los ensayos en S. melongena.....</i>	<i>228</i>
Apéndice D.	<i>Síntomas registrados en los ensayos en S. melongena</i>	<i>229</i>
	Ensayo dos	229
	Ensayo tres.....	234
Apéndice E.	<i>Comparaciones de medias de los ensayos dos y tres en S. melongena</i>	<i>235</i>
	Bioensayo dos	235
	Análisis de medias del efecto de las fuentes de infección.....	235
	Análisis de medias del efecto de las variedades de S. melongena.....	235
	Análisis de medias del efecto de la interacción fuente de infección-variedad.....	236
	Bioensayo tres.....	238
	Análisis de medias del efecto de las fuentes de infección.....	238
	Análisis de medias del efecto de las variedades de S. melongena.....	238
	Análisis de medias del efecto de la interacción fuente de infección-variedad.....	239
Apéndice F.	<i>Representación esquemática de la dilución progresiva de ácidos nucleicos</i>	<i>240</i>

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Familias taxonómicas y especies susceptibles a <i>T. fructirugosum</i> (EPPO, 2026) .	22
Cuadro 2. Relación de empresas que distribuyen semillas de variedades y tipos tomate con diferentes niveles de resistencia.	72
Cuadro 3. Productos utilizados para desestabilizar los viriones en superficies contaminadas por <i>T. fructirugosum</i> en diversos estudios.	78
Cuadro 4. Relación de activadores de resistencia y bioproductos evaluados en diversos estudios para el manejo de <i>T. fructirugosum</i> .	81
Cuadro 5. Tipo de bioestimulantes usados en la agricultura y nombres comerciales.	84
Cuadro 6. Oligonucleótidos utilizados en el ensayo de RT-PCR para la detección de control endógeno 18s y <i>T. fructirugosum</i> .	116
Cuadro 7. Fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i> , localidades y hospedantes.	121
Cuadro 8. Fuentes de infección, cobertura, identidad y error de las secuencias de <i>T. fructirugosum</i> obtenidas en este estudio y comparadas mediante BLASTn en NCBI.	124
Cuadro 9. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de los ORFs por RT-PCR.	134
Cuadro 10. Programas térmicos utilizados para la amplificación de los ORFs por RT-PCR.	134
Cuadro 11. Número de accesoión, región genómica y autor de las secuencias mexicanas de <i>T. fructirugosum</i> empleadas para la identificación de SNPs y análisis filogenéticos.	136
Cuadro 12. Set de oligonucleótidos y sonda utilizados para la evaluación mediante qPCR de la carga viral.	141
Cuadro 13. Cambios probables de SNPs entre las secuencias consenso en estudio y las secuencias mexicanas depositadas en el NCBI con respecto a la primer secuencia reportada.	151
Cuadro 14. Concentraciones de proteínas (viriones) obtenidas al medir la absorbancia (260/280) de los extractos obtenidos de cada una de las fuentes de infección.	155
Cuadro 15. Síntomas locales inducidos por las diferentes fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i> en plantas indicadoras.	158
Cuadro 16. Síntomas sistémicos inducidos por las diferentes fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i> en plantas indicadoras.	161
Cuadro 17. Comportamiento de las 11 fuentes de infección con respecto a análisis filogenético, SNP detectados y síntomas locales y sistémicos diferenciales en la planta que los presentó.	162
Cuadro 18. Comparación de valores de Ct en <i>S. lycopersicum</i> , <i>C. annuum</i> y <i>N. occidentalis</i> , para distintas fuentes de infección.	164
Cuadro 19. Fechas de inicio y termino de los bioensayos.	179
Cuadro 20. Ciclos de cuantificación obtenidos a partir de qPCR de muestras de cDNA obtenido de plantas de <i>S. melongena</i> inoculadas con las 11 fuentes de infección.	182

Cuadro 21. Promedios de Ct obtenidos de qPCR a partir de muestras de diferentes variedades de S. melongena inoculadas con 10 fuentes de infección contrastados con los controles y promedios por variedad.	183
Cuadro 22. Promedios de Ct obtenidos de qPCR a partir de muestras de diferentes variedades de S. melongena inoculadas con cinco fuentes de infección contrastados con los controles.	194
Cuadro 23. Valores promedio de la biomasa seca de las plantas inoculadas con las fuentes de infección evaluadas.	235
Cuadro 24. Valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas de las variedades evaluadas.	235
Cuadro 25. Valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas por variedad con su interacción con la fuente de infección.	236
Cuadro 26. Valores promedio de la biomasa seca de las plantas inoculadas con las fuentes de infección evaluadas.	238
Cuadro 27. Valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas de las variedades evaluadas.	238
Cuadro 28. Valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas por variedad con su interacción con la fuente de infección.	239

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntomas característicos de plantas de tomate infectadas por <i>T. fructirugosum</i>. (a y b) Patrón de mosaico en hojas de plantas de tomate; (c y d) manchas amarillas y deformación en frutos; (e) síntomas necróticos en pedúnculos y cáliz (Luria et al., 2017).	21
Figura 2. Distribución geográfica de <i>T. fructirugosum</i>. Fuente: EPPO (2026).	32
Figura 3. Ciclo de infección de tobamovirus en una célula vegetal. Adaptado de The American Phytopathological Society (APS) (Scholthof, 2005) y generado mediante BioRender.com.	35
Figura 4. Partículas de Tobamovirus. (Izquierda) Modelo de la partícula del Tobamovirus tabaci (TMV). (Derecha) Micrografía electrónica de la partícula de <i>T. tabaci</i> teñida con contraste negativo con acetato de uranilo. La barra representa 100 nm (ICTV, 2024).	41
Figura 5. Representación esquemática de la organización del genoma de virus del género Tobamovirus (S. Zhang et al., 2022).	42
Figura 6. Representación esquemática de la estructura del 7mG5'pppG del RNA viral (vRNA). 7-metilguanósina, mostrada en color naranja, y el extremo 5' del vRNA mostrado en color azul. Adaptado de Ferron et al. (2012).	43
Figura 7. Comparación de elemento Ω de <i>T. fructirugosum</i> y <i>T. tabaci</i>. (a) Localización y secuencia de elemento Ω de <i>T. fructirugosum</i>. (b) Localización y secuencia de elemento Ω de <i>T. tabaci</i>. (c) Alineación de ambas secuencias. Esquemas generados para este estudio mediante Benchling.	45
Figura 8. Reconstrucción filogenética de diferentes tobamovirus inferida a partir de secuencias de genomas completos (Salem et al., 2016). En cuadro rojo, el aislamiento inicial de Jordania y después nombrado <i>T. fructirugosum</i>.	51
Figura 9. Representación del diagnóstico de virus fitopatógenos mediante plantas indicadoras. Creado con BioRender.	53
Figura 10. Esquema general de un ensayo ELISA. Adaptado de Venbrux et al., 2023.	54
Figura 11. Diagrama del proceso de una qPCR utilizando sondas marcadas con fluorocromos. Creado con BioRender.	59
Figura 12. Diagrama del proceso de una qPCR utilizando intercalantes fluorescentes Creado con BioRender.	60
Figura 13. Diagrama de la RT-qPCR múltiple para la amplificación simultánea de dos ORFs de <i>T. fructirugosum</i>. Creado con BioRender.	60
Figura 14. Diagramas de las interrelaciones entre los factores que intervienen en las epidemias de enfermedades vegetales. a. Vision tradicional del tetraedro de la enfermedad; b. visión menos antropocéntrica de la configuración de una epidemia. Adaptado de Agrios (2004) y Oliver (2024), respectivamente. Creado con BioRender.	62

Figura 15. Conservación del residuo C68 en secuencia y estructura de la proteína de movimiento. (a) Alineación de secuencias parciales de proteínas de movimiento (MP) de tobamovirus que infectan solanáceas, mostrando la conservación del residuo C68; (b y c) Modelos tridimensionales predichos por AlphaFold de la MP de TMV (b) y de <i>T. fructirugosum</i> (c), en los que se indica la posición estructural del residuo C68 (Hak et al., 2023).	64
Figura 16. Localización del <i>T. fructirugosum</i> en semillas demostrada mediante inmunofluorescencia. A: semilla de tomate sana; B: semilla de tomate contaminada; es: endospermo; h: tricoma; t: testa. (N. M. Salem et al., 2022).	66
Figura 17. Estados fenológicos del tomate y susceptibilidad a <i>T. fructirugosum</i>. Creado con BioRender para este estudio.	79
Figura 18. Distribución geográfica de las muestras recolectada de <i>T. fructirugosum</i> en México para este estudio.	119
Figura 19. Síntomas asociados a la infección por <i>T. fructirugosum</i> en solanáceas. (a, b) Mosaico y deformaciones en folíolos de tomate (<i>S. lycopersicum</i>); (c) deformación de frutos y brotes jóvenes; (d, f) maduración irregular de frutos; (g, h) lesiones marrones en frutos; (i) deformación de frutos y (j) mosaico en hojas de tomate de cáscara (<i>P. philadelphica</i> var. Santa Lucia).	120
Figura 20. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos específicos para control endógeno (18s). Muestras: MM. Marcador de peso molecular de 1kpb; 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE.....	122
Figura 21. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos (ToBRFV-FMX y ToBRFV-RMX) específicos para el ORF de la RdRp de <i>T. fructirugosum</i>. Muestras: M. Marcador de peso molecular de 100pb; 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE.	123
Figura 22. Síntomas sistémicos inducidos por <i>T. fructirugosum</i> en <i>N. occidentalis</i> posterior a la inoculación mecánica. Las plantas inoculadas presentaron síntomas de moteados en hojas jóvenes, clorosis del tejido mesofílico adyacente a las nervaduras y áreas necróticas en hojas maduras.	124
Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos (ToBRFV-FMX y ToBRFV-RMX) específicos para el ORF de la RdRp de <i>T. fructirugosum</i>. Muestras: M. Marcador de peso molecular de 100pb (Promega, Cat. No. G2101); 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE.....	142
Figura 24. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos específicos (TF_PV_MP_F y TF_PV_MP_R)	

diseñados para el ORF de la MP de *T. fructirugosum*. Muestras: M. Marcador de peso molecular de 1kb (Thermo Fisher Scientific, Cat. No. 12308-011); 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE142

Figura 25. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos (TBR-F-5556 y TBR-R-6232) específicos para el ORF de la CP de *T. fructirugosum*. Muestras: M. Marcador de peso molecular de 1kb (Promega, Cat. No. G5711); 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE.142

Figura 26. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias parciales del ORF que codifica para la ARN polimerasa dependiente de ARN de fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* bajo estudio y secuencias de esta región depositadas en el NCBI. Los valores en los nodos indican probabilidades posteriores. La longitud de las ramas refleja la cantidad de cambio evolutivo (sustituciones por sitio) acumulado.144

Figura 27. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias parciales del ORF que codifica para la proteína de movimiento de fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* bajo estudio y secuencias de esta región depositadas en el NCBI. Los valores en los nodos indican probabilidades posteriores. La longitud de las ramas refleja la cantidad de cambio evolutivo (sustituciones por sitio) acumulado.....145

Figura 28. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias parciales del ORF que codifica para la proteína de cápside de fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* bajo estudio y secuencias de esta región depositadas en el NCBI. Los valores en los nodos indican probabilidades posteriores. La longitud de las ramas refleja la cantidad de cambio evolutivo (sustituciones por sitio) acumulado.146

Figura 29. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias parciales del *T. fructirugosum*. Los valores en los nodos indican probabilidades posteriores. La longitud de las ramas refleja la cantidad de cambio evolutivo (sustituciones por sitio) acumulado.147

Figura 30. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias de genomas completos de fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* reportadas en el NCBI.149

Figura 31. Acumulación de SNPs en las SPCE en el 26.5% del genoma viral analizado.153

Figura 32. Suspensión de viriones obtenida.154

Figura 33. Lesiones necróticas obtenidas a partir de tres concentraciones virales. A) testigo; B) concentración de 0.1 mg·mL⁻¹; C) concentración de 0.5 mg·mL⁻¹; y D) concentración de 1.0 mg·mL⁻¹.156

Figura 34. Biomasa promedio acumulada en plantas de <i>S. melongena</i> inoculadas con 10 fuentes de infección y un grupo testigo.	186
Figura 35. Biomasa promedio acumulada en plantas inoculadas de las cinco variedades de <i>S. melongena</i> con respecto a su testigo.	187
Figura 36. Análisis de medias del efecto de la fuente de infección y comparación múltiple de medias (letras).	189
Figura 37. Análisis de medias del efecto de la variedad.	191
Figura 38. Análisis de medias del efecto de la interacción fuente-variedad.	192
Figura 39. Gráficas de medias ajustadas por mínimos cuadrados de biomasa seca de las plantas de las variedades inoculadas influenciada por las fuentes de infección.	193
Figura 40. Representación del incremento de la carga de ácidos nucleicos virales a lo largo del tiempo bajo diferentes temperaturas. Elaborada a partir de APS (s/f) y González-Domínguez et al. (2020).	195
Figura 41. Biomasa promedio acumulada en plantas de <i>S. melongena</i> inoculadas con cinco fuentes de infección y un grupo testigo.	196
Figura 42. Biomasa promedio acumulada en plantas inoculadas y testigo de cinco variedades de <i>S. melongena</i>.	197
Figura 43. Análisis de medias del efecto de las fuentes de infección.	199
Figura 44. Análisis de medias del efecto de la variedad.	200
Figura 45. Análisis de medias del efecto de la interacción fuente de infección-variedad.	202
Figura 46. Gráficas de medias ajustadas por mínimos cuadrados de biomasa seca de las plantas de las variedades inoculadas influenciada por las fuentes de infección.	203
Figura 47. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Capsicum annuum</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	211
Figura 48. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Chenopodium album</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	212
Figura 49. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Chenopodium amaranticolor</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	213
Figura 50. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Datura metel</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	214

Figura 51. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Datura stramonium</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	215
Figura 52. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Nicotiana benthamiana</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	216
Figura 53. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Nicotiana clevelandii</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	217
Figura 54. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Nicotiana glutinosa</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	218
Figura 55. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Nicotiana occidentalis</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	219
Figura 56. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Nicotiana rustica</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	220
Figura 57. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Nicotiana tabacum</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	221
Figura 58. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Nicotiana virginia</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	222
Figura 59. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Physalis floridana</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	223
Figura 60. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Physalis philadelphica</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	224
Figura 61. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	225

Figura 62. Síntomas obtenidos en plantas de <i>Solanum melongena</i> posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de <i>T. fructirugosum</i>. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.	226
Figura 63. Curvas de amplificación obtenidas mediante qPCR para la evaluación de las fuentes de infección en plantas de <i>S. lycopersicum</i>. La fluorescencia relativa (RFU) se registró a lo largo de 40 ciclos de amplificación. El control positivo se muestra en rojo; el control negativo en verde; y el Control sin cDNA molde (NTC). Las curvas en azul corresponden a las muestras evaluadas.	227
Figura 64. Curvas de amplificación obtenidas mediante qPCR para la evaluación de las fuentes de infección en plantas de <i>C. annum</i>. La fluorescencia relativa (RFU) se registró a lo largo de 40 ciclos de amplificación. El control positivo se muestra en rojo; el control negativo en verde; y el Control sin cDNA molde (NTC). Las curvas en azul corresponden a las muestras evaluadas.	227
Figura 65. Curvas de amplificación obtenidas mediante qPCR para la evaluación de las fuentes de infección en plantas de <i>N. occidentalis</i>. La fluorescencia relativa (RFU) se registró a lo largo de 40 ciclos de amplificación. El control positivo se muestra en rojo; el control negativo en verde; y el Control sin cDNA molde (NTC). Las curvas en azul corresponden a las muestras evaluadas.	227
Figura 66. Registros promedio de temperaturas máximas y mínimas imperantes durante los ensayos en <i>S. melongena</i>.	228
Figura 67. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 1: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.	229
Figura 68. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 2: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.	230
Figura 69. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 3: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.	231
Figura 70. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 4: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.	232
Figura 71. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 5: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.	233
Figura 72. Síntomas obtenidos en diversas variedades en respuesta de diferentes fuentes de infección. A) variedad 5 x TLAX; B) variedad 5 x MICH; C) variedad 5 x SIN; D) variedad 1 x TLAX; E) variedad 1 x MOR; F) variedad 1 x MICH; G) variedad 4 x MICH; y H) variedad 4 x SLP.	234
Figura 73. Representación esquemática de la dilución progresiva de ácidos nucleicos virales durante el proceso de extracción de RNA, normalización de la concentración, síntesis de cDNA y PCR, que puede conducir a niveles subdetectables de material genético objetivo.	240

RESUMEN GENERAL

Diversidad del *Tobamovirus fructirugosum* y respuesta de *Solanum melongena* L., ante la infección

Tobamovirus fructirugosum es un virus emergente de relevancia fitosanitaria por su capacidad de infectar cultivos de importancia económica, principalmente tomate y pimiento, así como por su notable estabilidad, fácil transmisión mecánica, dispersión por semilla y superficies contaminadas. Debido a su creciente impacto en sistemas de producción hortícolas y a la información aún limitada sobre su comportamiento en México, es que se planteó esta investigación con el fin de generar conocimiento sobre su distribución, diversidad molecular y biológica en el país, así como su interacción con distintos hospedantes. La presencia e identidad del virus en las principales regiones productoras de solanáceas de la República Mexicana se confirmó mediante la recolección de material vegetal sintomático y su análisis por RT-PCR y secuenciación de un fragmento del ORF que codifica para la RdRp; los resultados corroboraron la ocurrencia de *T. fructirugosum* en diferentes localidades y hospedantes, lo que confirmó su distribución en zonas agrícolas de relevancia. Once fuentes de infección mexicanas fueron caracterizadas molecular y biológicamente. La caracterización molecular se realizó a partir de la amplificación parcial por RT-PCR y secuenciación de ORFs clave del genoma del virus; los resultados evidenciaron variabilidad genética entre los aislamientos analizados mostrada por agrupamientos diferenciados en la reconstrucción filogenética. El análisis de los polimorfismos de nucleótido único, en las secuencias obtenidas de las fuentes de infección virales, indicó la existencia de cambios tanto sinónimos como no sinónimos con posible influencia en funciones relacionadas con replicación de su ácido nucleico, movimiento y encapsidación. La caracterización biológica, en plantas diferenciales, mostró respuestas heterogéneas desde ausencia de síntomas, reacciones locales, hasta síntomas sistémicos. La carga viral fue evaluada por RT-qPCR evidenciando diferencias en acumulación viral. En conjunto, estos hallazgos evidenciaron que las fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* son heterogéneas ya que

presentaron diversidad genética y fenotípica capaz de modificar la interacción virus-hospedante. Finalmente, la interacción de cinco variedades de *Solanum melongena* con diversas fuentes de infección se evaluó bajo condiciones de invernadero. Los resultados revelaron que *S. melongena* es susceptible de ser infectada por el virus; con lo cual se aclaró la controversia existente sobre la susceptibilidad de este cultivo al virus. Los resultados revelaron que la infección y su expresión dependieron de la combinación entre la fuente de infección, la variedad vegetal y las condiciones ambientales: a temperaturas de 25.27 °C hubo nula infección, mientras que arriba de 36.60 °C las incidencias se elevaron. Asimismo, la sintomatología expresada, la acumulación de la carga viral y reducción de biomasa entre variedades y fuentes de infección fueron diferentes.

En conjunto, los resultados de esta investigación evidenciaron que las fuentes de infección de *T. fructirugosum* presentes en México, poseen variabilidad intraespecífica relevante y que pueden interactuar diferencialmente con diversos hospedantes, incluida *S. melongena*. Los resultados generados fortalecen la comprensión epidemiológica del patógeno y sientan bases para futuras investigaciones.

Palabras clave: *Tobamovirus fructirugosum*, *Solanum melongena*, susceptibilidad, resistencia, variabilidad genética, RT-qPCR e interacción planta-patógeno.

Tesis de Maestría en Protección Vegetal, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Rubén Ruvalcaba Ramírez
Director de tesis: Camilo Hernández Juárez

ABSTRACT

Diversity of *Tobamovirus fructirugosum* and response of *Solanum melongena* L. to infection

Tobamovirus fructirugosum is an emerging virus of phytosanitary relevance due to its ability to infect economically important crops, mainly tomato and pepper, as well as its notable stability, ease of mechanical transmission, spread via seed, and persistence on contaminated surfaces. Given its increasing impact on horticultural production systems and the still limited information on its behavior in Mexico, this study was undertaken to generate knowledge on its distribution, molecular and biological diversity in the country, as well as its interaction with different hosts. The presence and identity of the virus in the main solanaceous-producing regions of the Mexican Republic were confirmed through the collection of symptomatic plant material and its analysis by RT-PCR and sequencing of a fragment of the ORF encoding the RdRp; the results corroborated the occurrence of *T. fructirugosum* in different localities and hosts, confirming its distribution in agriculturally relevant areas. Eleven Mexican infection sources were molecularly and biologically characterized. Molecular characterization was carried out through partial amplification by RT-PCR and sequencing of key ORFs of the viral genome; the results revealed genetic variability among the analyzed isolates, as shown by distinct clustering in phylogenetic reconstruction. Analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the sequences obtained from viral infection sources indicated the presence of both synonymous and non-synonymous changes, with possible influence on functions related to nucleic acid replication, movement, and encapsidation. Biological characterization, using differential hosts, showed heterogeneous responses ranging from absence of symptoms and local reactions to systemic symptoms. Viral load was evaluated by RT-qPCR, revealing differences in viral accumulation. Overall, these findings demonstrated that Mexican infection sources of *T. fructirugosum* are heterogeneous, exhibiting genetic and phenotypic diversity capable of modifying the virus–host interaction. Finally, the interaction of five *Solanum melongena* varieties with different infection sources was evaluated under greenhouse conditions. The results revealed that

S. melongena is susceptible to infection by the virus, thereby clarifying the existing controversy regarding the susceptibility of this crop. The results showed that infection and its expression depended on the combination of the infection source, plant variety, and environmental conditions: at 25.27 °C no infection was observed, whereas above 36.60 °C incidence increased. Likewise, symptom expression, viral load accumulation, and biomass reduction varied among varieties and infection sources.

Overall, the results of this study demonstrated that infection sources of *T. fructirugosum* present in Mexico possess relevant intraspecific variability and can interact differentially with various hosts, including *S. melongena*. These findings strengthen the epidemiological understanding of the pathogen and provide a basis for future research.

Keywords: *Tobamovirus fructirugosum*, *Solanum melongena*, susceptibility, resistance, genetic variability, RT-qPCR, and plant–pathogen interaction.

Master's Thesis in Plant Protection, Department of Agricultural Parasitology, Chapingo Autonomous University

Author: Rubén Ruvalcaba Ramírez

Thesis Advisor: Camilo Hernández Juárez

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1 Origen del *Tobamovirus fructirugosum*

En el 2014 fueron reportados nuevos casos de un tobamovirus llamado *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* (actualmente *Tobamovirus fructirugosum* (ICTV, 2024b)) que afectó a tomate en Israel y Jordania. El análisis genómico de este virus reveló que tiene un genoma completo de 6,393 nucleótidos, y que con los aislamientos analizados y comparados estuvieron genéticamente relacionados; sin embargo, este análisis evidenció que la secuencia genómica de *T. fructirugosum* difiere del *Tobamovirus tomatotessellati* (ToMV, acrónimo de su nombre anterior *Tomato mosaic virus*) y del *Tobamovirus tabaci* (TMV, acrónimo de su nombre anterior *Tobacco mosaic virus*) en un 16% y 18% respectivamente, lo que sugirió que este nuevo virus pudo haberse originado a partir de recombinación de aislamientos de estas dos especies (N. M. Salem et al., 2016). Con respecto a esto, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV), estableció que para proponer una nueva especie basta una diferencia genómica del 15% (King, 2011). Las plantas infectadas con el *T. fructirugosum* expresaron síntomas foliares de tipo mosaicos leves a severos, en frutos rugosidades y manchas de color marrón, afectando el valor comercial del producto (Cambrón-Crisantos et al., 2018; Ling et al., 2019; Luria et al., 2017; N. M. Salem et al., 2016).

1.1.2 Taxonomía del *T. fructirugosum*.

La taxonomía del *T. fructirugosum* es según el ICTV (2024b) es:

Dominio: *Riboviria*

Reino *Orthornavirae*

Filum: *Kitrinoviricota*

Clase: *Alsuviricetes*

Orden: *Martellivirales*

Familia: *Virgaviridae*

Género: *Tobamovirus*

Especie: *Tobamovirus fructirugosum*

1.1.3 Descripción del virión *T. fructirugosum*

La partícula viral se caracteriza por ser de forma de varilla rígida, al igual que *T. tabaci* (Cambrón-Crisantos et al., 2019) y carecer de envoltura lipídica (ICTV, 2024a). Está compuesta principalmente por proteínas de la cápside dispuestas helicoidalmente que protegen a un genoma de RNA monocatenario de sentido positivo (ssRNA+) de aproximadamente 6.3 kb (ICTV, 2024a; N. M. Salem et al., 2016); cuenta con cuatro marcos de lectura abiertos (ORF, por sus siglas en inglés, Open Reading Frame) que codifican para cuatro proteínas: Metil Transferasa-Helicasa (Mtr-Hel), RNA Polimerasa RNA dependiente (RdRp), Proteína de Movimiento (MP) y Proteína de Cápside (CP), mismas que le permiten la infección (Smith & Dombrovsky, 2020).

Los viriones poseen una gran resistencia a condiciones físicas y químicas adversas (Cann, 2009) que facilitan su dispersión mecánica a través de herramientas agrícolas, semillas y superficies contaminadas (Hull, 2013; N. M. Salem et al., 2022), lo que contribuye a su notable persistencia en el ambiente y en superficies de contacto (Dombrovsky et al., 2017). En conjunto estos atributos explican que, a pesar de tratarse de un virus sin envoltura, con un genoma relativamente compacto y su facilidad de propagación sea de amplia distribución geográfica; convirtiéndolo en un foco de atención mundial dado su alto impacto fitosanitario en comparación con otros virus de plantas, reforzando su carácter de patógeno emergente de alta preocupación para la producción de *Solanum lycopersicum* (tomate) y otras solanáceas (Caruso et al., 2022; EPPO, 2026; Vasquez Gutierrez, López López, et al., 2024).

1.1.4 Sintomatología

Los síntomas de la infección por *T. fructirugosum* son comparables a los de otros tobamovirus (Alon et al., 2021; Luria et al., 2017; N. M. Salem et al., 2016); sin embargo, los causados por *T. fructirugosum* en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum*) son manchas rugosas y deformaciones, así como mosaicos de diversas tonalidades en las hojas (Figura 1) (Cambrón-Crisantos et al., 2019; Luria et al., 2017; N. M. Salem et al., 2016; Vásquez Gutiérrez et al., 2025).



Figura 1. Síntomas característicos de plantas de tomate infectadas por *T. fructirugosum*. (a y b) Patrón de mosaico en hojas de plantas de tomate; (c y d) manchas amarillas y deformación en frutos; (e) síntomas necróticos en pedúnculos y cáliz (Luria et al., 2017).

1.1.5 Rango de hospedantes

El *T. fructirugosum* es capaz de infectar a un amplio rango de hospedantes que incluye principalmente especies de la familia Solanacea, siendo *S. lycopersicum*

y *Capsicum annuum* (pimiento) los hospedantes primarios de mayor importancia económica y cultural, limitando significativamente la producción de estas especies y posicionándolo como una plaga cuarentenaria a nivel mundial. Las investigaciones han confirmado que el virus puede infectar eficientemente tanto cultivares comerciales como variedades tradicionales de tomate, superando las barreras de resistencia previamente efectivas (Luria et al., 2017).

Estudios y reportes recientes han ampliado el espectro conocido de plantas susceptibles hasta un total de 82 especies en 21 familias taxonómicas (**Cuadro 1**) (EPPO, 2026; Vásquez Gutiérrez et al., 2025). Sin embargo, los estudios de Vasquez-Gutierrez et al., (2024) son ambiguos e inespecíficos en la respuesta de la planta frente a la infección y por lo tanto, la asociación con el rango de hospedantes. La corroboración de estos reportes, es importante debido a que esta expansión del rango de hospedantes tiene implicaciones críticas para el manejo de la enfermedad, ya que estas especies pueden actuar como reservorios naturales del virus, facilitando su persistencia y diseminación en ecosistemas agrícolas y naturales (Erdogan et al., 2025).

Cuadro 1. Familias taxonómicas y especies susceptibles a *T. fructirugosum* (EPPO, 2026) .

Familia taxonómica	Especie
Amaranthaceae	<i>Amaranthus retroflexus</i> , <i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>Marítima</i> , <i>Chenopodium murale</i> , <i>Amaranthus hybridus</i> , <i>Amaranthus viridis</i> , <i>Chenopodium album</i> , <i>Chenopodium giganteum</i> , <i>Chenopodium quinoa</i> y <i>Gomphrena globosa</i>
Apocynaceae	<i>Catharanthus roseus</i>
Araliaceae	<i>Hedera helix</i>
Asteraceae	<i>Erigeron canadensis</i> , <i>Taraxacum officinale</i> , <i>Chrysanthemum indicum</i> , <i>Bidens Pilosa</i> , <i>Emilia sonchifolia</i> , <i>Glebionis coronaria</i> , <i>Helianthus annuus</i> , <i>Lactuca serriola</i> , <i>Sonchus oleraceus</i> y <i>Verbesina encelioides</i>
Brassicaceae	<i>Brassica napus</i>
Caryophyllaceae	<i>Polycarpon tetraphyllum</i>
Convolvulaceae	<i>Convolvulus arvensis</i> e <i>Ipomoea purpurea</i>
Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i>
Lamiaceae	<i>Marrubium vulgare</i>

Malvaceae	<i>Corchorus olitorius</i> , <i>Malva parviflora</i> , <i>Malva neglecta</i> y <i>Malvastrum coromandelianum</i>
Nyctaginaceae	<i>Mirabilis jalapa</i>
Oxalidaceae	<i>Oxalis corniculata</i> y <i>Oxalis latifolia</i>
Plantaginaceae	<i>Veronica syriaca</i> y <i>Plantago lanceolata</i>
Polygonaceae	<i>Persicaria perfoliata</i> y <i>Fallopia convolvulus</i>
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>
Ranunculaceae	<i>Clematis drummondii</i>
Resedaceae	<i>Reseda luteola</i>
Rosaceae	<i>Rubus idaeus</i>
Rubiaceae	<i>Bouvardia ternifolia</i>
Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i> , <i>Datura metel</i> , <i>D. stramonium</i> , <i>D. innoxia</i> , <i>Nicotiana clevelandii</i> , <i>N. debneyi</i> , <i>N. glauca</i> , <i>N. glutinosa</i> , <i>N. longiflora</i> , <i>N. occidentalis</i> , <i>N. rustica</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>N. benthamiana</i> , <i>Petunia hybrids</i>
	<i>Physalis pubescens</i> , <i>Solanum cheesmaniae</i> , <i>S. chilense</i> , <i>S. chmielewskii</i> , <i>S. corneliomulleri</i> , <i>S. galapagense</i> , <i>S. habrochaites</i> , <i>S. huaylasense</i> , <i>S. juglandifolium</i> , <i>S. lycopersicum</i> var. <i>Cerasiforme</i> , <i>S. melongena</i> , <i>S. neorickii</i> , <i>S. ochranthum</i> , <i>S. pennellii</i> , <i>S. peruvianum</i> , <i>S. pimpinellifolium</i> , <i>S. rostratum</i> , <i>S. sitiens</i> , <i>S. tuberosum</i> , <i>S. arcanum</i> , <i>S. elaeagnifolium</i> , <i>S. lycopersicum</i> y <i>S. nigrum</i>
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i>

1.2 Identificación y justificación del problema

La dispersión y diseminación de *T. fructirugosum* afectan principalmente a cultivos de tomate y pimiento bajo invernadero o a cielo abierto (Luria et al., 2017; N. Salem et al., 2022; N. M. Salem et al., 2016) y experimentalmente se ha reportado susceptibilidad en diversas especies de solanáceas como: *Datura stramonium*, *Nicotiana* spp., *Physalis* spp. y *Solanum* spp. (Chanda, Gilliard, et al., 2021; EPPO, 2023; N. Salem et al., 2022). Este amplio rango de hospedantes aunado a las pérdidas económicas (Dey, 2019) debidas a los síntomas que ocasiona y los mecanismos de transmisión relacionados a la alta estabilidad de los viriones, lo hace candidato a transmitirse por contacto y semilla, por lo cual la NIMF 038 lo sitúa como plaga categoría 1 y SENASICA mediante un análisis de riesgo, lo definió como Plaga No Cuarentenaria Reglamentada para México, pero con alto riesgo de ocasionar pérdidas económicas en los cultivos de solanáceas (SENASICA, 2020a).

Existe controversia con relación a la susceptibilidad de *Solanum melongena* (berenjena) al *T. fructirugosum*, ya que algunos experimentos han informado que la berenjena no es susceptible al virus (Chanda, Gilliard, et al., 2021; Panno et al., 2019, 2020); sin embargo, hay otros estudios que indican que si puede infectarla (EPPO, 2023; Sabra et al., 2022; SENASICA, 2020a; USDA, 2021; Z.-Y. Yan et al., 2019; Zamora et al., 2025; Z. Zhang et al., 2016). En México, el virus se ha reportado infectando a *S. melongena* en Sinaloa sin mayores especificaciones y Estado de México de manera experimental, en una variedad no reportada (Zamora et al., 2025). Esta disonancia en los reportes crea la necesidad de investigaciones adicionales para comprender mejor la complejidad genómica del virus y su interacción con diferentes variedades de *S. melongena*.

En este contexto, resulta particularmente relevante corroborar si *S. melongena* es susceptible a *T. fructirugosum*, ya que se trata de un cultivo solanáceo de importancia económica mundial que comparte nicho productivo, prácticas de manejo y, potencialmente, vías de transmisión con otros hospedantes cuya susceptibilidad ha sido corroborada (EPPO, 2023). La determinación de la susceptibilidad o resistencia de ese cultivo, no solo permitirá dimensionar el riesgo fitosanitario directo, sino también establecer si esta especie puede funcionar como hospedante alternativo del virus, manteniendo el inóculo en ausencia de otros cultivos susceptibles, favoreciendo la persistencia y dispersión en el agroecosistema. Además, este dato podría utilizarse en el diseño de estrategias de manejo integrado, contribuyendo a una mayor comprensión del patosistema.

En este estudio se comprobaron dos juegos de hipótesis: la existencia de variabilidad molecular del *T. fructirugosum* relacionada a la respuesta expresada ante la inoculación de los diferentes aislamientos y la diferente respuesta de las variedades de *S. melongena* frente a *T. fructirugosum*. Para esto, se identificaron (mediante RT-PCR, (por sus siglas en inglés Polymerase Chain Reaction)) 11 fuentes de infección, se caracterizaron molecular y biológicamente con el fin de conocer su variabilidad. El comportamiento de la carga viral determinó mediante qPCR en hospedantes de importancia económica e investigación. Y la respuesta

de cinco variedades de *S. melongena* fue evaluada mediante la inoculación de diversas fuentes de infección del virus.

1.3 REFERENCIAS

- Alon, D. M., Hak, H., Bornstein, M., Pines, G., & Spiegelman, Z. (2021). Differential Detection of the Tobamoviruses Tomato Mosaic Virus (ToMV) and Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) Using CRISPR-Cas12a. *Plants*, 10(6), 1256. <https://doi.org/10.3390/plants10061256>
- Cambrón-Crisantos, J. M., Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, J. B., Alcasio Rangel, S., García-Ávila, C. de J., López-Buenfil, J. A., Ochoa-Martínez, D. L., Cambrón-Crisantos, J. M., Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, J. B., Alcasio Rangel, S., García-Ávila, C. de J., López-Buenfil, J. A., & Ochoa-Martínez, D. L. (2019). Primer reporte de Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) en Michoacán, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 37(1), 185–192. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1810-5>
- Cambrón-Crisantos, J. M., Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, J. B., Alcasio-Rangel, S., García-Ávila, C. D. J., López-Buenfil, J. A., & Ochoa-Martínez, D. L. (2018). Primer reporte de Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 37(1). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1810-5>
- Cann, A. J. (2009). *PRINCIPIOS DE VIROLOGIA MOLECULAR* (Editorial Acribia, S.A.).
- Caruso, A. G., Bertacca, S., Parrella, G., Rizzo, R., Davino, S., & Panno, S. (2022). Tomato brown rugose fruit virus: A pathogen that is changing the tomato production worldwide. *Annals of Applied Biology*, 181(3), 258–274. <https://doi.org/10.1111/aab.12788>
- Chanda, B., Gilliard, A., Jaiswal, N., & Ling, K.-S. (2021, noviembre). *Comparative Analysis of Host Range, Ability to Infect Tomato Cultivars with Tm-22 Gene, and Real-Time Reverse Transcription PCR Detection of Tomato Brown Rugose Fruit Virus*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1070-RE>

- Dey, K. (2019, mayo). *Tomato brown rugose fruit virus (Tobamovirus, ToBRFV)*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services Division of Plant Industry. <https://ccmedia.fdacs.gov/content/download/83755/file/pest-alert-tomato-brown-rugose-fruit-virus.pdf>
- Dombrovsky, A., Smith, E., Dombrovsky, A., & Smith, E. (2017). Seed Transmission of Tobamoviruses: Aspects of Global Disease Distribution. En *Advances in Seed Biology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70244>
- EPPO. (2026, enero 29). *Tobamovirus fructirugosum (TOBRFV)[World distribution]* EPPO Global Database. <https://gd.eppo.int/taxon/TOBRFV/distribution>
- EPPO, E. et M. pour la P. des P. (2023). *Tomato brown rugose fruit virus (TOBRFV)[Overview]* EPPO Global Database. <https://gd.eppo.int/taxon/TOBRFV>
- Erdogan, T., Cinar, C., Teber, S., & Isik, D. (2025). Enhancing RNA Isolation Efficiency for Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) Detection in Non-primary Host Weeds and Determination of Host Potential. *Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences*, 78(4). <https://doi.org/10.7546/CRABS.2025.04.16>
- Hull, R. (2013). *Plant Virology*. <https://shop.elsevier.com/books/plant-virology/hull/978-0-12-384871-0>
- ICTV. (2024a). Genus: *Tobamovirus*. https://ictv.global/report/chapter/virgaviridae/virgaviridae/tobamovirus?utm_source=chatgpt.com
- ICTV. (2024b, octubre 30). *Current ICTV Taxonomy Release*. <https://ictv.global/taxonomy>

- King, A. M. (with Adams, M. J., Carstens, E. B., & Lefkowitz, E. B.). (2011). *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Louis, Mo, Usaes. Elsevier professional.
- Ling, K.-S., Tian, T., Gurung, S., Salati, R., & Gilliard, A. (2019). First Report of Tomato Brown Rugose Fruit Virus Infecting Greenhouse Tomato in the United States. *Plant Disease*, 103(6), 1439. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-1959-PDN>
- Luria, N., Smith, E., Reingold, V., Bekelman, I., Lapidot, M., Levin, I., Elad, N., Tam, Y., Sela, N., Abu-Ras, A., Ezra, N., Haberman, A., Yitzhak, L., Lachman, O., & Dombrovsky, A. (2017). A New Israeli Tobamovirus Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-22 Resistance Genes. *PLOS ONE*, 12(1), e0170429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170429>
- Panno, S., Caruso, A. G., Barone, S., Lo Bosco, G., Rangel, E. A., & Davino, S. (2020). Spread of Tomato Brown Rugose Fruit Virus in Sicily and Evaluation of the Spatiotemporal Dispersion in Experimental Conditions. *Agronomy*, 10(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060834>
- Panno, S., Ruiz-Ruiz, S., Caruso, A. G., Alfaro-Fernandez, A., Ambrosio, M. I. F. S., & Davino, S. (2019). Real-time reverse transcription polymerase chain reaction development for rapid detection of Tomato brown rugose fruit virus and comparison with other techniques. *PeerJ*, 7, e7928. <https://doi.org/10.7717/peerj.7928>
- Sabra, A., Amer, M. A., Hussain, K., Zakri, A., Al-Shahwan, I. M., & Al-Saleh, M. A. (2022). Occurrence and Distribution of Tomato Brown Rugose Fruit Virus Infecting Tomato Crop in Saudi Arabia. *Plants*, 11(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/plants11223157>
- Salem, N., Abumuslem, M., Turina, M., Samarah, N., Sulaiman, A., Abu-Irmaileh, B., & Ata, Y. (2022). New Weed Hosts for Tomato Brown Rugose Fruit Virus

- in Wild Mediterranean Vegetation. *Plants*, 11(17), Article 17.
<https://doi.org/10.3390/plants11172287>
- Salem, N. M., Mansour, A., Ciuffo, M., Falk, B. W., & Turina, M. (2016). A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. *Archives of Virology*, 161(2), 503–506. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2677-7>
- Salem, N. M., Sulaiman, A., Samarah, N., Turina, M., & Vallino, M. (2022). Localization and Mechanical Transmission of Tomato Brown Rugose Fruit Virus in Tomato Seeds. *Plant Disease*, 106(1), 275–281.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-11-20-2413-RE>
- SENASICA. (2020). *Panorama Nacional del Virus del fruto rugoso café del Tomate (ToBRFV)* (p. 9) [Análisis Estratégico de Riesgos Sanitarios]. AGRICULTURA.
https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2020/abril/PANToBRFV_bc6c0958-dc49-4fb5-ac21-355322898f15.pdf
- Smith, E., & Dombrovsky, A. (2020). Aspects in *Tobamovirus* Management in Intensive Agriculture. En S. Topolovec-Pintarić (Ed.), *Plant Diseases—Current Threats and Management Trends*. IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.87101>
- USDA, A. and P. H. I. S. U. S. D. O. A. (2021, mayo 27). *Survey and Response Plan—Tobamovirus: Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV)*.
https://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/plant_imports/tobrfv/tobrfv-survey-and-response-plan.pdf
- Vásquez Gutiérrez, U., Delgado-Ortiz, J. C., Frías-Treviño, G. A., Aguirre-Uribe, L. A., & Flores-Olivas, A. (2025). Tobamovirus fructirugosum an emerging disease: Review and current situation in Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 43(1).
<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2401-7>

- Vasquez Gutierrez, U., López López, H., Frías Treviño, G. A., Delgado Ortiz, J. C., Flores Olivas, A., Aguirre Uribe, L. A., & Hernández Juárez, A. (2024). Biological Exploration and Physicochemical Characteristics of Tomato Brown Rugose Fruit Virus in Several Host Crops. *Agronomy*, 14(2), 388. <https://doi.org/10.3390/agronomy14020388>
- Yan, Z.-Y., Ma, H.-Y., Han, S.-L., Geng, C., Tian, Y.-P., & Li, X.-D. (2019). First Report of Tomato brown rugose fruit virus Infecting Tomato in China. *Plant Disease*, 103(11), 2973–2973. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-1045-PDN>
- Zamora, E. J., Ochoa-Martínez Daniel Leobardo, Chavarín-Camacho Claudia Yaritza, Rosemarie W. Hammond, & Aviña-Padilla Katia. (2025). *Host-Specific Adaptations and Global Transmission Potential of a Mexican ToBRFV Isolate: Insights from Genomic Analysis* (p. 2025.01.08.631997). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2025.01.08.631997>
- Zhang, Z., Zheng, K., Dong, J., Fang, Q., Hong, J., & Wang, X. (2016). Clustering and cellular distribution characteristics of virus particles of Tomato spotted wilt virus and Tomato zonate spot virus in different plant hosts. *Virology Journal*, 13(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0466-x>

CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia

El *T. fructirugosum* fue descrito inicialmente en la región de Oriente Medio a mediados de la década de 2010, cuando productores de tomate (*S. lycopersicum*, cv. Candela) reportaron síntomas inusuales que no correspondían a los ocasionados por los patógenos virales conocidos de la época, con incidencias cercanas al 100%; los cuales incluían síntomas leves en hojas y que, al avanzar la etapa fenológica del cultivo, los frutos mostraron rugosidad marrón que afectaron el valor comercial. Los investigadores secuenciaron el genoma completo del virus y determinaron que no era *Tobacco mosaic virus* (*Tobamovirus tabaci*) ni *Tomato mosaic virus* (*T. tomatotessellati*) debido a que solo compartían 82.4% y 84.6% de identidad, respectivamente; con lo cual concluyeron que habían identificado a un nuevo tobamovirus, al que propusieron nombrar como “tomato brown rugose fruit virus” (N. M. Salem et al., 2016). Mas tarde Luria et al. (2017) respaldaron estos hallazgos mediante una caracterización completa de este patosistema, resaltando que esta nueva especie tiene la capacidad para superar fuentes de resistencia en tomate previamente efectivas para tobamovirus y con un alto potencial de dispersión a otras regiones productoras.

En los siguientes años, los reportes de *T. fructirugosum* se extendieron hacia Europa, Asia y posteriormente América, reportando al virus en zonas productoras que incluyeron sistemas bajo invernadero y a cielo abierto (Menzel & Winter, 2021a). A partir de esta fecha, el *T. fructirugosum* se reportó en Europa, Asia y posteriormente América (EPPO, 2026). Esta actualización en la distribución geográfica resaltó la importancia de regular las rutas comerciales internacionales para vigilar la posible introducción de patógenos emergentes (European Food Safety Authority (EFSA), 2022; García-Romero & Bocanegra-Flores, 2018; ISHI-Veg, 2019). Frente a este escenario, se establecieron colaboraciones globales entre instituciones de investigación, agencias gubernamentales y la industria semillera para compartir datos epidemiológicos y desarrollar protocolos

armonizados de detección enfocados a reducir los riesgos de diseminación del patógeno (ISHI-Veg, 2019; NAPPO, 2023; Rodríguez-Mendoza et al., 2019).

2.2 Distribución geográfica

En la actualidad, el *T. fructirugosum* se ha detectado en los cinco continentes y en 54 países, dentro de los que se sitúa México (**Figura 2**) (EPPO, 2026).

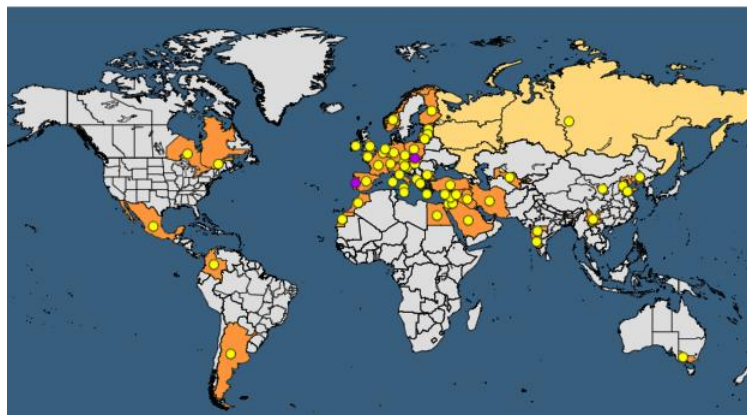


Figura 2. Distribución geográfica de *T. fructirugosum*. Fuente: EPPO (2026).

2.3 Importancia económica

El *T. fructirugosum* ha emergido como uno de los principales desafíos fitosanitarios en la industria hortícola, debido a las pérdidas económicas asociadas a la disminución del rendimiento y la calidad de los frutos de tomate (Caruso et al., 2022); Esto, aunado a su capacidad de transmisión por contacto, a través de semillas contaminadas y prácticas culturales comunes que incluyen la movilización de plántulas, a nivel nacional sin regulación gubernamental (Levitzky et al., 2019; N. M. Salem et al., 2016). Lo anterior, obliga a los productores a invertir en programas más estrictos de manejo integrado y la adopción de protocolos de vigilancia fitosanitaria, lo cual afecta directamente el comercio e incrementa los costos de producción (NAPPO, 2023; Turina & Salem, 2020).

2.4 Sintomatología

Los síntomas expresados en las plantas infectadas por virus como *T. fructirugosum* son resultado de la alteración de los procesos metabólicos celulares inducidos por la irritación continua del virus al utilizar moléculas orgánicas producidas por el hospedante para su multiplicación y diseminación. Al carecer de vías metabólicas propias, los virus secuestran los ribosomas, complejos de traducción y la maquinaria de replicación de los ácidos nucleicos de la célula hospedante para sintetizar sus proteínas y replicar su genoma, desviando recursos críticos de los procesos fisiológicos normales de la planta. Esta competencia del virus por recursos de la célula genera alteraciones sistémicas en las rutas metabólicas principales: fotosíntesis, síntesis de azúcares, respiración celular, síntesis de ATP, alteraciones en la síntesis de fosfolípidos, replicación del material genético celular, transcripción génica, síntesis y plegamiento de proteínas estructurales y enzimáticas de la célula vegetal (Wang et al., 2024); lo anterior se traduce en la expresión de síntomas en la planta infectada debido a interacción perpetua entre los tobamovirus y la célula infectas, sin dejar de lado, el costo involucrado en los sistemas de defensa.

Todas estas alteraciones ocasionadas por el virus se reflejan en síntomas macroscópicos que incluyen manchas rugosas, deformaciones y reducción del calibre de los frutos del tomate (Cambrón-Crisantos et al., 2019; N. M. Salem et al., 2016). En pimiento, el *T. fructirugosum* induce clorosis, mosaico, moteado, reducción, y deformaciones en las hojas, que incluyen ámpulas de color verde oscuro; en los tallos provoca lesiones necróticas lineales y en los frutos, maduración irregular con manchas amarillas irregulares, rugosidad abultada y textura coriácea (Fidan et al., 2021).

Con respecto a la expresión de síntomas en berenjena, en estudios con un aislamiento mexicano de *T. fructirugosum*, las plántulas mostraron una marcada necrosis sistémica que afectó tanto tallos como hojas (Zamora et al., 2025); sin embargo, en ensayos realizados en Japón observaron síntomas leves y transitorios, es decir, manchas cloróticas tenues y leve ondulación foliar que

aparecieron aproximadamente 10 días después de la inoculación, pero desaparecieron progresivamente (Kubota et al., 2023).

Esta sintomatología se debe a que, en el ciclo de infección, el virus se apropia de la maquinaria celular del hospedante disponiendo de los recursos bioquímicos que utilizaría para sus procesos metabólicos.

2.4.1 Ciclo de multiplicación

Los viriones son depositados dentro de la célula por herida mecánica, una vez dentro, los ribosomas detectan el extremo 5' del genoma que posee un Cap e inicia la traducción de los primeros ORFs (1 y 2); esto da origen a las proteínas replicativas de aproximadamente 126 kDa y 183 kDa, esta última generada por lectura continua del codón de terminación. Una vez sintetizadas, maduras y ensambladas se unen al vRNA y lo trasladan hacia la superficie de las membranas citoplasmáticas, especialmente a las del retículo endoplásmico, donde se forman complejos de replicación viral; en estos se sintetiza una cadena complementaria sentido negativo (RNA⁻: 3' - 5') a través de la RdRp, que sirve como molde para la replicación de nuevas cadenas genómicas positivas (RNA⁺: 5' - 3'). A partir de ese paso también se transcriben los RNAs subgenómicos que permiten la traducción de la proteína de movimiento (MP) y proteína de cápside (CP), ya que estas no se traducen directamente del vRNA (**Figura 3**).

Las nuevas cadenas de RNA⁺ pueden tener tres funciones: servir como mRNA viral adicional, formar nuevos viriones o integrarse en complejos destinados al movimiento célula a célula y posteriormente sistema vascular. Durante esta fase aumenta la acumulación de MP y CP, mientras los genomas virales continúan replicándose en las células inicialmente infectadas.

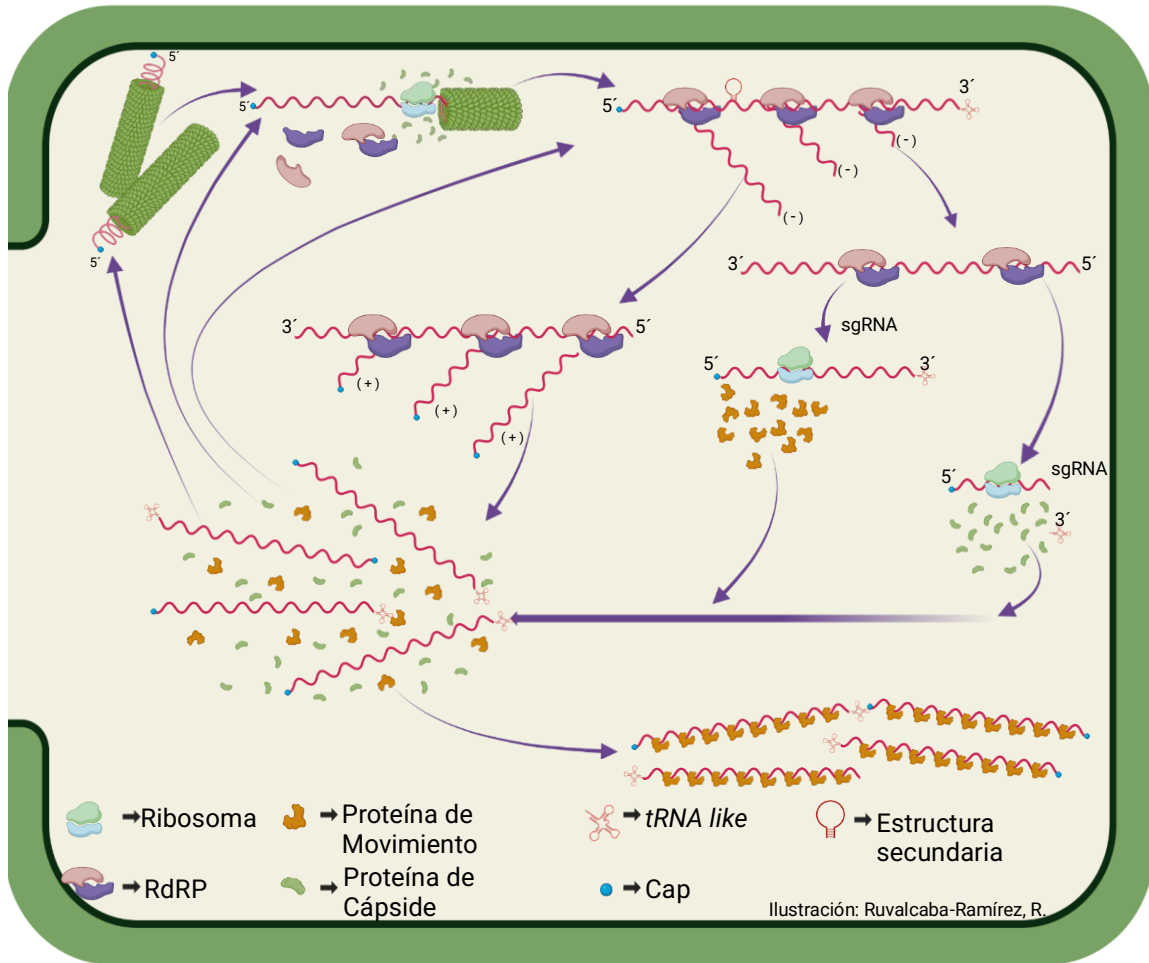


Figura 3. Ciclo de infección de tobamovirus en una célula vegetal. Adaptado de The American Phytopathological Society (APS) (Scholthof, 2005) y generado mediante BioRender.com.

2.4.2 Interacción Tobamovirus-Planta

Efectores virales que inducen la defensa de la planta (MAMP, microbe-associated molecular patterns) o factores de avirulencia (Avr)

Las plantas han desarrollado receptores proteicos de defensa específicos, codificados por genes de resistencia (*R*), que identifican los efectores virales para activar la respuesta: la subunidad de la replicasa (50 kDa) es reconocida por la proteína Tm-1 del tomate e inhibe la formación del complejo de replicación, aunque no activa una muerte celular localizada; por su parte, la MP es reconocida por los receptores de membrana Tm-2 y Tm-2² en el tomate y la CP es reconocida

por el gen L en el pimiento (*Capsicum annuum*) y por el gen N en *Nicotiana sylvestris*; y ambos efectores disparan la defensa celular. Por otra parte el dsRNA, fase intermediaria durante la replicación del genoma viral, es reconocido como un efector por receptores en la superficie celular (PRRs, cell surface-localized pattern recognition receptors) y activa la inmunidad por patrones (PTI, por sus siglas en inglés, pattern-triggered immunity), que induce la activación de la ruta metabólica para la síntesis y deposición de calosa en los plasmodesmos para frenar el avance del virus (Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023).

Respuesta de la planta ante el reconocimiento de efectores

La respuesta de las células ante el reconocimiento de efectores virales es bioquímica y estructural. La estructural consiste de síntesis de polímeros insolubles que resultan difíciles de penetrar para el patógeno y pueden ser depósitos de calosa, muerte celular localizada, formación de estrómulos en los cloroplastos, regulación de plasmodesmos por PDL5 y agrupamiento perinuclear de organelos (Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023); la respuesta principal es el cierre de los plasmodesmos mediante la síntesis y acumulación de calosa (1-3- β -glucano); este polisacárido se activa mediante la regulación positiva del Ácido salicílico (SA) sobre la transcripción de la enzima calosa sintasa 1 (CalS1) y de la proteína localizada en plasmodesmos PDL5, las cuales son responsables de la síntesis de calosa; otra vía para su activación es mediante la inducción por PTI inducido por dsRNA viral por parte de receptores de la planta que activan la cascada de señales para sus síntesis, donde participan proteínas como BAK1, BIK1 y la proteína de unión a calcio CML41 (Oliver, 2024; Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023).

Por otro lado, la defensa bioquímica opera mediante moléculas pequeñas a medianas, solubles en agua o en lípidos, o mediante macromoléculas como proteínas o RNA (Oliver, 2024) que inducen las respuestas de inmunidad de las plantas a los tobamovirus, incluida la activada por patrones PTI, la activada por ETI (por sus siglas en inglés, effector-triggered immunity), la vía de

direccionamiento de RNA (RNA-targeting pathway), las fitohormonas, las especies reactivas de oxígeno (ROS) y la autofagia.

Se ha propuesto a los PTI antivirales como el mecanismo de respuesta más importante, porque algunas proteínas virales suprimen las respuestas de PTI activadas por PAMP (pathogen-associated molecular patterns) y quinasas de tipo receptor (Fontes et al., 2021). Por ejemplo, la quinasa 1 asociada a Brassinosteroides (BAK1) y el regulador central de PTI, contribuyen a la defensa de las plantas contra varios virus de RNA, incluyendo dos tobamovirus, *T. tabaci* y *Tobamovirus youcai* (*Youcai mosaic virus*) (Zheng et al., 2024).

El silenciamiento génico (SG) es un sistema de inactivación de genes mediado por moléculas pequeñas de RNA interferentes (iRNA) que guían el corte endonucleolítico, la degradación o represión de la traducción de RNAs mensajeros, o bloquean la transcripción (Cuperus et al., 2011; Oliver, 2024). Una forma de silenciar los genes virales es mediante la incorporación de secuencias artificiales de RNA (dsRNA y miRNA) homólogos a regiones del genoma viral (Cuperus et al., 2011; Garcia-Ruiz et al., 2016). Este sistema ha sido documentado en diversas especies virales, incluidos los tobamovirus y en específicos para el *T. fructirugosum* para silenciar la expresión de la RpRd y para *T. tabaci* (cápside) (Abel et al., 1986; Weiss et al., 2026).

Las fitohormonas regulan diversas vías del sistema de defensa de las células vegetales contra tobamovirus; estas incluyen el ácido salicílico (SA), el ácido jasmónico (JA), el etileno, el ácido abscísico (ABA), las auxinas y los brasinoesteroides.

El SA disminuye la acumulación de RNA viral al interrumpir su replicación en las células del mesófilo y dificultar el movimiento del virus de célula a célula; además, activa el silenciamiento del RNA viral disminuyendo la expresión de proteínas virales (RdRp, MP y CP); es esencial para la inmunidad mediada por el gen N, ya que su acumulación temprana previene el escape del virus mediante respuestas de hipersensibilidad (Zheng et al., 2024). El SA interactúa con el ABA

en la defensa antiviral al aumentar la expresión de los genes *RDR1*, *RDR2* y *RDR6* (Zheng et al., 2024).

Otras hormonas vegetales tales como el ácido jasmónico (JA) y jasmonato de metilo (MeJA), tienen un importante papel en la defensa contra el *T. tabaci*, al inducir la SAR (por sus siglas en inglés, systemic acquired resistance) aunque se han documentado que facilitan el movimiento sistémico de este virus. Por otro lado, la fitohormona etileno participa en la defensa mediante la inducción de genes contra el *Tobamovirus viridimaculae* (CGMMV, acrónimo por sus siglas en inglés, *Cucumber green mottle mosaic virus*) al inducir la expresión del gen *AGO5*. Además, puede regular la respuesta hipersensible al actuar como un regulador negativo de la respuesta hipersensible mediada por el gen *N* inducida por el *T. tabaci* (Zheng et al., 2024).

Por otro lado, las auxinas pueden ser manipuladas por los virus para favorecer su infección, al reprogramar la respuesta cuando interactúan con las proteínas Aux/IAA (como IAA26), interrumpiendo su función nuclear para mejorar la carga del virus en el floema y agravar los síntomas sistémicos (Zheng et al., 2024).

Los brasinoesteroides están ligados a PTI, por ejemplo BAK1, un regulador central de la señalización de brasinoesteroides, contribuye a la defensa basal contra varios virus de RNA, incluyendo tobamovirus (Zheng et al., 2024)

Las ROS actúan generalmente como reguladores positivos de la defensa antiviral, participando en la señalización local y sistémica. Tras la infección, las plantas producen ROS rápidamente mediante la activación de proteínas RBOH (respiratory burst oxidase homolog). En plantas que poseen el gen de resistencia *N* este síntesis de intermediarios de oxígeno ocurre de forma casi inmediata tras la infección por el *T. tabaci*. Participan en la inducción proteínas virales (CP) que pueden disparar un brote oxidativo; regulan el factor de transcripción AL7 que se asocia con la proteína *N* para inhibir los genes encargados de eliminar las ROS, lo que promueve su acumulación y fortalece la respuesta inmune. Por el contrario, la planta también posee genes de eliminación de ROS (como *CSD2* y *APX1*) que

el virus puede intentar aprovechar; se ha observado que silenciar genes como *GMP1* eleva los niveles de ROS y reduce la acumulación de *T. tabaci* (Zheng et al., 2024).

La autofagia es un proceso celular conservado que degrada materiales citoplasmáticos y los integra a la vacuola, y funciona como un mecanismo antiviral directo. Este proceso, caracterizado en tobamovirus como el *T. tabaci* o el virus del *Tobamovirus capsici* (*Pepper mild mottle tobamovirus*), involucra la expresión de genes relacionados con la autofagia (ATGs). Por otro lado, puede tener un efecto defensivo al interrumpir este proceso (mediante inhibidores o el silenciamiento de genes ATG) y provocar un incremento de la acumulación de RNA viral y en síntomas sistémicos más graves. Este mecanismo está relacionado con la muerte celular al promover la respuesta hipersensible (HR) mediada por el gen *N*. Además, el inhibidor Bax-1 regula positivamente la autofagia activada por el gen *N*, lo que a su vez regula negativamente la muerte celular para controlar la infección (Zheng et al., 2024).

Respuesta del virus ante la defensa de la planta

Los virus de plantas han desarrollado diversas estrategias para responder a las defensas del hospedante, asegurar su infección y diseminación. Para contrarrestar el sistema de defensa basado en iRNA, casi todos los virus han adaptado proteínas específicas para evadir su silenciamiento génico (VSRs, por sus siglas en inglés, viral suppressors of RNA silencing)(RdRp), lo que les permite interferir con esta vía y establecerse eficazmente en la planta. La subunidad de 126 kDa secuestra los iRNA, reduce y debilita los complejos proteicos involucrados en el SG. Por otra parte, la MP favorece la señalización del SG al permitir el tráfico ambisentido por los plasmodesmos de los iRNA, lo cual modula la supresión del SG sistémico para evitar la muerte de la planta, debido a que los virus son parásitos obligados; de la misma forma, la CP estabiliza vRNA al encapsidarlo y así evitar el gasto excesivo de iRNA (Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023).

Por otro lado, debido a sus grandes concentraciones y ciclos cortos de replicación de los genomas virales, presentan altas tasas de mutación generando variantes que pueden dejar de ser reconocidas por los genes de resistencia (R) en la célula hospedante, lo que conduce a la ruptura de la resistencia. Y además, reduce la aptitud del virus para competir con otras variantes y especies (Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023). A esto se suma su capacidad de recombinación genética, proceso por el cual pueden intercambiar material genético con otros virus y así adquirir nuevas características dentro de las que destacan su comportamiento de virulencia y rango de hospedantes al adaptarse a nuevas especies vegetales (Sztuba-Solińska et al., 2011); por ejemplo, *T. fructirugosum* con el gen Tm2² del tomate (N. M. Salem et al., 2016).

En resumen, estos virus apropian la maquinaria celular del hospedante para su beneficio, utilizando procesos normales como la replicación y transcripción de los ácidos nucleicos, la síntesis de proteínas y el transporte a través de plasmodesmos para moverse entre células; sin embargo, deben de tener aptitudes que les permitan responder ante la defensa de la células hospedera y evadir las barreras físicas iniciales y bioquímicas para establecer infecciones sistémicas (Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023). Lo anterior lo logran a pesar de la simpleza de su estructura.

2.5 ESTRUCTURA DEL VIRUS

La forma de las nucleoproteínas de los tobamovirus son varillas rígidas desnudas, formadas por capsómeros dispuestos de manera helicoidal (Klug, 1999) que le confieren una alta estabilidad al ácido nucleico ante las condiciones físico-químicas y ambientales (Hull, 2013; ICTV, 2024a; Melcher et al., 2021). Los viriones tienen un diámetro de 18 nm y una longitud predominante de 300-310 nm (**Figura 4**). Las partículas virales más cortas son producidas por la encapsidación de los RNA subgenómicos (sgRNA) y suelen ser una proporción menor del total de las partículas, aunque algunas especies del género forman abundantes fragmentos virales de 32-34 nm (ICTV, 2024a). Los viriones suelen

formar grandes cuerpos de inclusión cristalinas visibles al microscopio óptico (Christie & Edwardson, 1977).

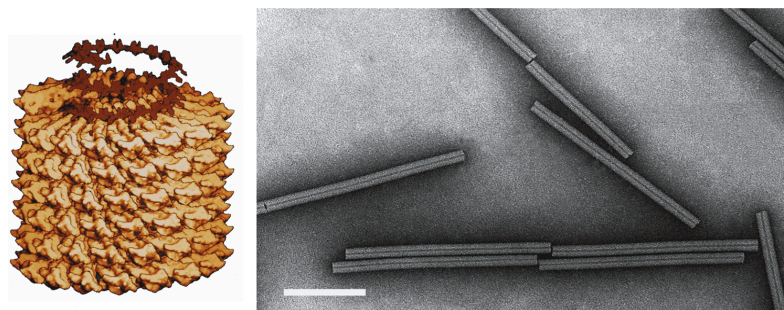


Figura 4. Partículas de Tobamovirus. (Izquierda) Modelo de la partícula del *Tobamovirus tabaci* (TMV). (Derecha) Micrografía electrónica de la partícula de *T. tabaci* teñida con contraste negativo con acetato de uranilo. La barra representa 100 nm (ICTV, 2024).

2.5.1 Genoma y mapa genético

La estructura del genoma de *T. fructirugosum* (**Figura 5**) ha sido descrita a partir de secuencias completas procedentes de Jordania, Israel, Italia y Estados Unidos (Ling et al., 2019; Luria et al., 2017; Panno et al., 2019; N. M. Salem et al., 2016). Con lo cual se ha concluido que el genoma de *T. fructirugosum*, al igual que otros tobamovirus es de RNA monocatenario de polaridad positiva (ssRNA+) (Hull, 2013; Ishibashi & Ishikawa, 2016). La longitud total va desde los 6,3 a 6,4 kb, siendo similar al resto de los virus del género.

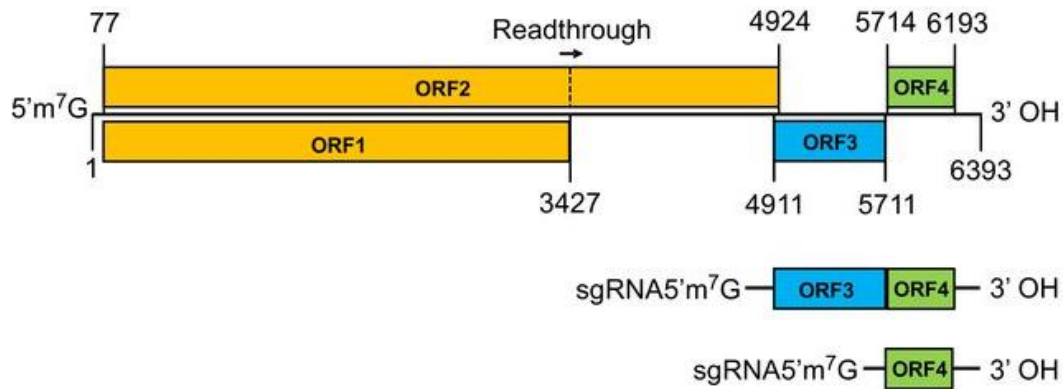


Figura 5. Representación esquemática de la organización del genoma de virus del género *Tobamovirus* (S. Zhang et al., 2022).

La estructura genómica de los tobamovirus posee en el extremo 5' una estructura 7-metilguanosa cap, un elemento omega de aproximadamente 70 nts de longitud que contiene muchas repeticiones citosinas-adeninas (CAA) y pocos o ninguna guanina (G); seguido de cuatro ORF's: dos continuos (ORF1 y ORF2), uno traslapado (ORF3) y uno discontinuo (ORF4) separado por una Non Translated Region (NTR) de tres nucleótidos y en la región 3' un NTR de entre 0,2 y 0,4 kb que contiene secuencias que pueden plegarse en pseudonudos, seguidas de secuencias terminales 3' que pueden plegarse en una estructura similar a un RNAt receptora de aminoácidos (tRNAlike). Los vRNA subgenómicos transcritos en células infectadas también tienen una cap 5'-terminal y una estructura similar al tRNA en 3' (ICTV, 2024a).

Estructura 7-metilguanosina cap

La estructura 7-metilguanosina (7mG5'pppG) es una modificación química especializada que se encuentra típicamente en RNA mensajeros eucarióticos y que juega un papel fundamental en la regulación de la expresión génica (Topisirovic et al., 2011). Esta estructura consiste en una guanosina unida al primer nucleótido del genoma viral a través de un enlace trifosfato inusual (5'-ppp), con una metilación en la posición N-7 de la base de guanina y frecuentemente con una metilación adicional en la posición 2'-OH de la ribosa del primer nucleótido codificante (Cowling, 2010; Furuichi, 2015) (Ferron et al., 2012; Ishikawa & Okada, 2004; Kawamura-Nagaya et al., 2014) (**Figura 6**).

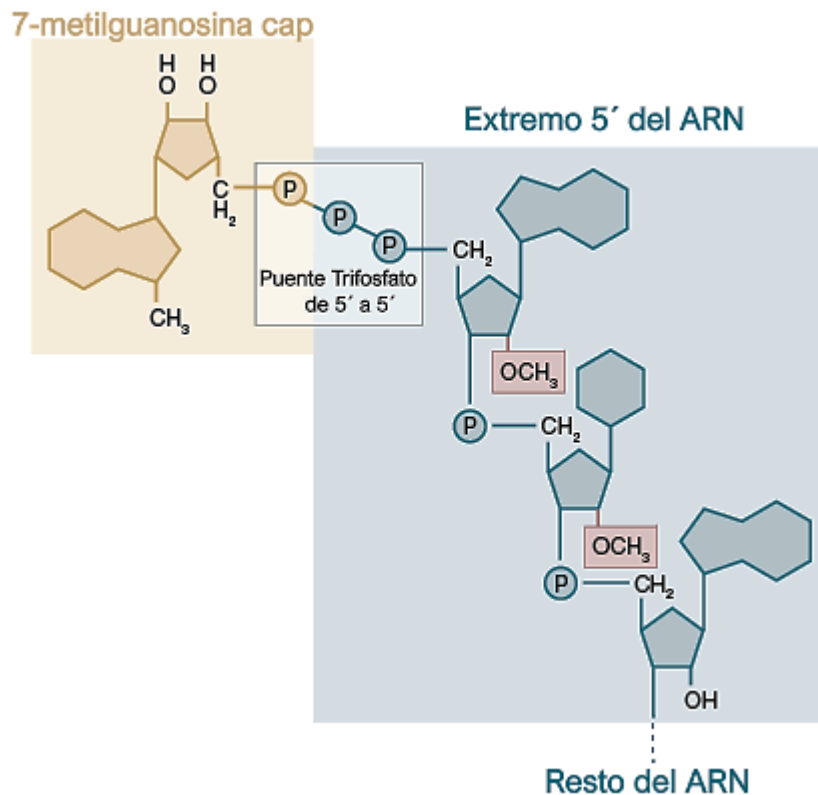


Figura 6. Representación esquemática de la estructura del 7mG5'pppG del RNA viral (vRNA). 7-metilguanosina, mostrada en color naranja, y el extremo 5' del vRNA mostrado en color azul. Adaptado de Ferron et al. (2012).

Funcionalmente, el cap 7mG5'pppG desempeña diversos papeles en el ciclo del virus: (1) facilita el reconocimiento del ribosoma y la iniciación de la síntesis de la replicasa codificada en ORF1 (Christensen et al., 2009; Topisirovic et al., 2011), (2) protege el genoma viral de la degradación por exonucleasas celulares (Decroly et al., 2012), y (3) participa en el proceso de unión del virión a la red de citoesqueleto de actina (microfilamentos) durante las etapas tempranas de la infección (Christensen et al., 2009).

Elemento omega

El elemento omega (Ω) es una secuencia reguladora de aproximadamente 67–76 nucleótidos localizada en la región 5' no traducida (5' UTR) del genoma de los tobamovirus, precediendo inmediatamente al ORF1 (Kawamura-Nagaya et al., 2014). Esta región fue ampliamente descrita, en el *T. tabaci*, debido a su papel fundamental en el inicio del ciclo replicativo del genoma viral. A pesar de su tamaño relativamente pequeño, representa uno de los reguladores más estudiados en virología vegetal debido a su capacidad bifuncional para coordinar tanto la traducción como la replicación del genoma (Gallie, 2002).

Esta región deficiente de guaninas y rica en adeninas y citosinas le permite la interacción específica con componentes de la maquinaria traduccional del hospedante, particularmente con el factor de iniciación eucariótico 4F (eIF4F), promoviendo un reclutamiento eficiente de los ribosomas incluso en condiciones donde la traducción cap-dependiente está comprometida. Esta propiedad convierte al elemento Ω en un potente promotor de la traducción, permitiendo la síntesis masiva de replicasas codificadas en los ORF's 1 y 2 durante las etapas tempranas de la infección (Gallie, 2002; Kawamura-Nagaya et al., 2014). A la par, el elemento Ω desempeña una función crítica en la replicación del genoma viral al actuar únicamente sobre la misma molécula de vRNA en la que se encuentra, y no sobre otros RNA presentes en la célula; siendo un sitio de reconocimiento para la RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp). Durante la traducción de la proteína de 126 kDa, la proteína naciente se une al elemento Ω del mismo RNA genómico del cual está siendo sintetizada, estableciendo un complejo

2022a). Estudios recientes han señalado que este dominio presenta cierta variabilidad genética (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025). Estas variaciones podrían influir en la eficiencia del proceso de capping y la estabilidad del RNA (Ishibashi & Ishikawa, 2016), lo que sugiere un papel importante en la adaptación del virus a diferentes hospederos o condiciones ambientales (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025).

Open Reading Frame 2

En los tobamovirus, el ORF2 inicia en la posición 3,428 y termina en la posición 4,924 y codifica para la RdRp de 57 kDa; se traduce a partir mediante un mecanismo de lectura continua (readthrough) del codón de terminación del ORF1, formando un complejo proteico (metil transferasa-helicasa-RdRp). Este ORF comparte los últimos trece nucleótidos con el ORF3 (traslapado con el ORF2) (ICTV, 2024a; S. Zhang et al., 2022a).

Open Reading Frame 3

Este ORF codifica para la proteína de movimiento (MP)(30 kDa) y está enmarcado desde la posición 4,911 hasta la posición 5,711; esta traslapado con el ORF2 (S. Zhang et al., 2022a).

Open Reading Frame 4

Codifica para la proteína de cápside (CP)(17.5 kDa) inicia en la posición 5,714 y termina en la posición 6,193 (S. Zhang et al., 2022b).

NTR

Comprende de la posición 6,194 hasta la posición 6,393; el 3'-NTR contiene secuencias que pueden plegarse en una estructura similar al tRNA que aceptora de aminoácidos (S. Zhang et al., 2022b).

RNA subgenómicos virales

Son RNA virales producto de la transcripción del genoma viral que sirven para completar la traducción de la totalidad de las proteínas. En una primera transcripción se sintetiza uno a partir de la posición 4,911 a la 6,193 que posee una copia de los ORFs 3 y 4; y en un segundo ciclo de transcripción se sintetiza el que va de 5,714 a 6,193, ambos con cap en 5' y en 3' un tRNA-like (S. Zhang et al., 2022a).

2.5.2 Proteínas codificadas en el genoma viral

Dominio metiltransferasa (Mtr)

Esta proteína forma parte de un complejo junto con la helicasa, con un peso molecular de 126 kDa y está codificado en el ORF1. La función específica de este dominio en *T. fructirugosum* no está completamente elucidada, mientras que en otros tobamovirus desempeña un papel crucial en el ciclo de multiplicación viral y su interacción con el hospedero (Janet et al., 2025), y cataliza la adición de la estructura Cap 5' al RNA viral. Estos procesos son fundamentales para la estabilidad y la evasión de las respuestas inmunitarias del hospedante. Además, garantiza la compatibilidad con la maquinaria de traducción del hospedante y facilita la síntesis eficiente de proteínas virales (Ishibashi & Ishikawa, 2016a; Rivera-Márquez et al., 2022).

Dominio helicasa (Hel)

La función principal del dominio helicasa es facilitar el desenrollamiento de los complejos formados en el RNA y favorece los procesos de replicación y transcripción viral. Esta actividad es crucial para la eficiente síntesis de nuevas copias del genoma viral y la transcripción de RNA mensajeros subgenómicos para asegurar la completa expresión del genoma viral (ICTV, 2024).

RNA polimerasa RNA dependiente (RdRp)

Esta enzima es traducida por los ribosomas mediante la lectura continua del ORF1 y el ORF2. En este tipo de traducción, la mayoría de los ribosomas reconocen el codón de parada al final del ORF1 que codifica para el complejo proteico de 126 kDa. En una fracción menor de eventos, dicho codón de terminación no es reconocido, lo que permite que el ribosoma continúe la traducción, extendiendo el polipéptido hacia la región correspondiente al ORF2, donde se localiza el dominio de la RdRp; de este modo, el producto corresponde es una replicasa funcional de 183 kDa (Ishikawa & Okada, 2004; ViralZone, 2023).

Este complejo proteico es suficiente para sostener la replicación del genoma viral en células individuales del hospedante (ICTV, 2024a; Lewandowski & Dawson, 2000). Además, participa en la transcripción de los RNA subgenómicos que codifican para la MP y la CP, permitiendo la expresión de ORFs aun no traducidos del genoma viral. De igual forma, esta enzima brinda fidelidad y direccionalidad al proceso replicativo al interactuar con secuencias estructurales específicas del genoma viral y con factores del hospedero que modulan la eficiencia de la replicación y la transcripción (Ishibashi & Ishikawa, 2016; Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023).

Proteína de Movimiento (MP)

Esta proteína facilita el desplazamiento del virus de célula a célula a través de los plasmodesmos vía los desmotubulos (Ershova et al., 2025; Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023). La alteración en la estructura aminoacídica de esta proteína puede influir en la gama de hospedantes que el virus puede infectar, destacándola como un factor determinante en la epidemiología del virus (Guenoune-Gelbart et al., 2008; Luria et al., 2017; Zisi et al., 2024).

Proteína de cápside (CP)

Una de las funciones de la proteína de cápside es proteger el genoma viral (ICTV, 2024a; Wylie, 2023). La CP también puede interactuar con receptores específicos de membranas celulares de las células de las plantas para mediar la entrada del virus. Además, ha sido ampliamente estudiada por su capacidad para modular negativamente la inmunidad mediada por ácido salicílico, estabilizando proteínas DELLA (que también intervienen en la alteración de las enzimas eliminadoras de ROS y en la modulación de múltiples vías de señalización hormonal, incluidas las vías de defensa (Grant y Jones, 2009)) y facilitando el movimiento sistémico del virus a través de los haces vasculares. También se ha observado que puede interferir con mecanismos como el silenciamiento de vRNA, lo que permite al virus evadir las defensas de la planta y establecer una infección exitosa (Conti et al., 2016; Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023).

2.5.3 Estabilidad y variabilidad de los ORFs

La estabilidad y variabilidad en las regiones del genoma de los virus tiene impacto sobre la expresión y la funcionalidad de las proteínas codificadas debido a que podrían favorecer o atenuar su expresión (Hak et al., 2023). En este contexto, el ORF en el que se ha evidenciado mayor estabilidad es el que codifica para la RdRp, ya que este dominio es importante para crear réplicas fieles del genoma (Alkowni et al., 2019; Rodríguez-Mendoza et al., 2019; Vogler et al., 2007).

En contraste, los ORF's 1, 3 y 4 que codifican para la Mtr-Hel, MP y CP respectivamente, muestran una variabilidad nucleotídica en regiones azarosas, lo que puede estar relacionado con la adaptación del virus a presiones de selección impuestas por diferentes hospedantes, ambientes y regiones geográficas (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025).

2.6 Relaciones filogenéticas

La palabra filogenia tiene raíces griegas: *phylon*: raza, linaje o tribu y *geneia*: génesis. Este término fue acuñado por Haeckel en 1866, y es una rama de la

biología evolutiva que tiene como objetivo proporcionar conocimiento sobre la evolución de los organismos vivos. Conceptualmente, se basa en la idea propuesta por Charles Darwin de que el "sistema natural" debe representarse como un árbol genealógico que refleje dicha evolución. En la actualidad, la filogenia utiliza mayoritariamente datos moleculares (secuencias de ácidos nucleicos o proteínas) para inferir estas relaciones, permitiendo describir y predecir vínculos entre organismos mediante modelos matemáticos. Las relaciones filogenéticas se han convertido en uno de los criterios primordiales para definir y distinguir taxones (como las especies de virus y sus variantes), considerándolos como grupos monofiléticos cuyas propiedades se distinguen de otras por múltiples criterios (Pagán, 2018).

Estudios con genomas completos han demostrado que *T. fructirugosum* se agrupa en clados bien definidos en contraste con otros virus del mismo género (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025; Ibañez et al., 2025) y que su diversificación global comenzó alrededor de 2014, con Jordania como el origen más probable (N. M. Salem et al., 2016). Desde el punto de vista filogenético se ubica en un subclado que sugiere un proceso de divergencia reciente a partir de dos tobamovirus: *T. tomatotessellati* y *T. tabaci* (**Figura 8**). (Luria et al., 2017; N. M. Salem et al., 2016). Se ha planteado que la emergencia de *T. fructirugosum* podría estar vinculada a eventos de recombinación genética entre estos tobamovirus (Luria et al., 2017; N. M. Salem et al., 2016; Z.-Y. Yan et al., 2019), los cuales habrían contribuido a su capacidad de adaptarse y multiplicarse en variedades

previamente reportadas como resistentes y facilitar la rápida dispersión por semilla a nivel global (Ehlers et al., 2023a).

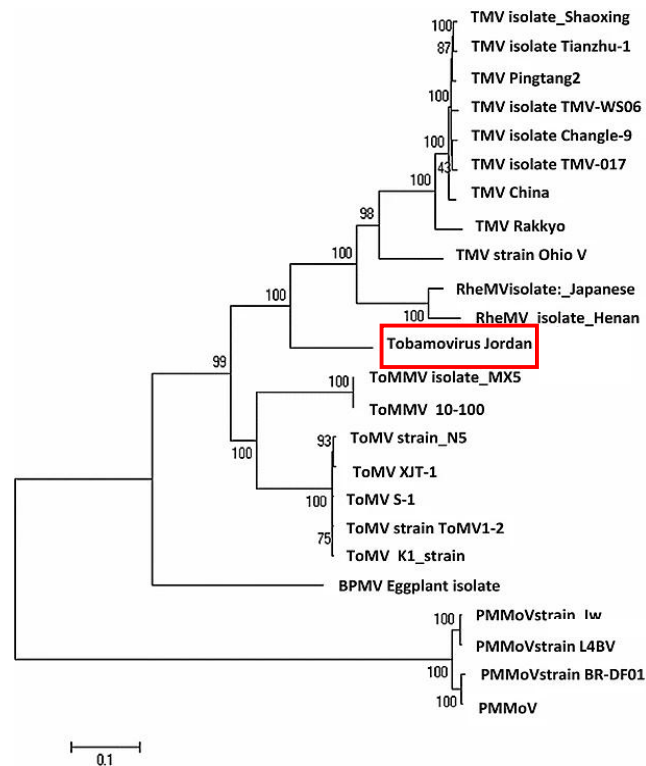


Figura 8. Reconstrucción filogenética de diferentes tobamovirus inferida a partir de secuencias de genomas completos (Salem et al., 2016). En cuadro rojo, el aislamiento inicial de Jordania y después nombrado *T. fructirugosum*.

Las relaciones filogenéticas intraespecíficas de *T. fructirugosum* están siendo exploradas y actualizadas mediante secuencias completas de genomas de diferentes aislamientos, provenientes de diferentes hospedantes, regiones geográficas y tiempos; las cuales, están infiriendo la diversificación nucleotídica de los genomas de los diferentes aislamientos con los cuales está siendo alimentada la base de datos denominada “*Real-time tracking of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) outbreaks using Nextstrain (v5)*”(De Koning et al., 2025). Aunado a lo anterior, la exploración de la diversidad también ha sido evidenciada utilizando secuencias parciales del ORF2 (Ávila-Alistac et al., 2024).

2.7 Principales métodos de detección

2.7.1 Biológicos (hospedantes experimentales)

Aunque inicialmente, solo se reportó la infección de *T. fructirugosum* en tomate (*S. lycopersicum*) conforme se diseminó se fueron reportando nuevos hospedantes hasta completar 77 (EPPO, 2026; N. M. Salem et al., 2016; Vásquez Gutiérrez et al., 2025), dentro de los cuales se encuentran las principales plantas experimentales (Indicadoras y diferenciales); las cuales funcionan como hospedantes sensibles que expresan síntomas característicos y distintivos cuando se inoculan con el virus; una representación gráfica se muestra en la **Figura 9** (creada para esta tesis para ejemplificar la respuesta de las plantas ante la inoculación de diferentes virus). Una vez inoculadas, estas plantas desarrollan síntomas locales o sistémicos (lesiones necróticas locales, necrosis, clorosis, mosaicos, deformaciones, etc.) en un período relativamente corto de tiempo, con lo cual se interpreta como respuesta visual de la planta frente al virus inoculado sin necesidad de equipamiento sofisticado. Esto permite realizar una identificación preliminar, sin embargo, dichos síntomas suelen ser similares a los provocados por otros miembros del mismo género, lo que puede dificultar una identificación precisa sin apoyo de técnicas complementarias. Especialmente cuando se presenten infecciones virales en donde estén presentes más de un género de virus (M. Adams & Antoniw, 2005; Cárdenas-Soriano, 1999).

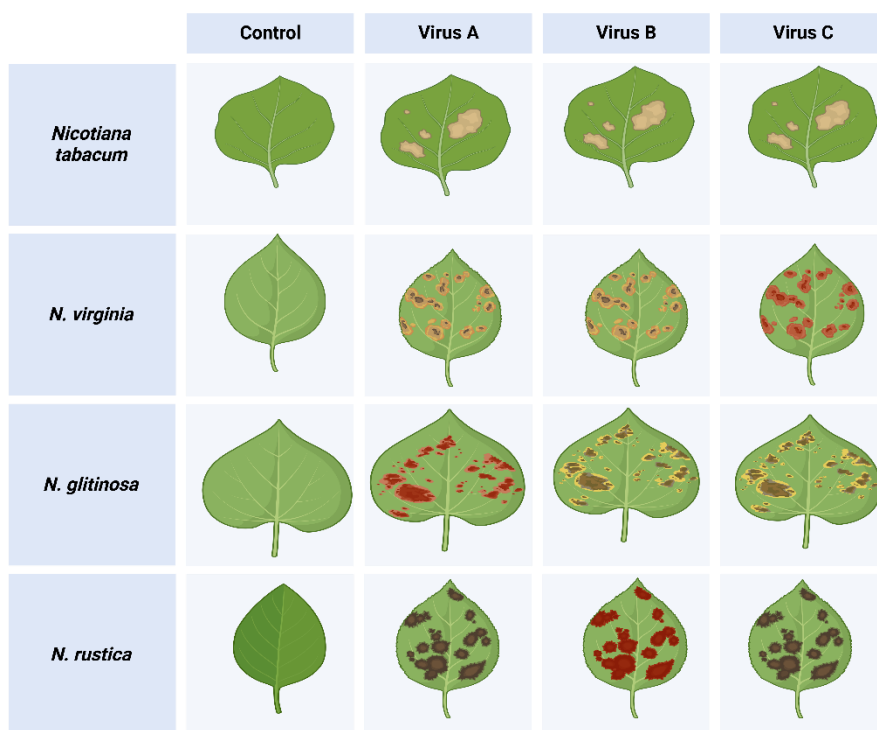


Ilustración: Ruvalcaba-Ramírez, R.

Figura 9. Representación del diagnóstico de virus fitopatógenos mediante plantas indicadoras.
Creado con BioRender.

Esta forma de identificación ha sido utilizada para diagnosticar a nivel de género (M. Adams & Antoniow, 2005) y a nivel de especie para *T. tabaci* (Cárdenas-Soriano, 1999). A la fecha no se han encontrado reportes de caracterización biológica tal como lo establecen las autoridades fitosanitarias a nivel mundial (EPPO, 2022b) para *T. fructirugosum*.

2.7.2 Métodos serológicos: ELISA e ImmunoStrips

Los ensayos por Inmunoadsorción Ligado a Enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) funcionan mediante la interacción específica entre anticuerpos y las proteínas virales presentes en el extracto vegetal. De forma general, los anticuerpos de captura se inmovilizan en una superficie (placas de microtitulación de poliestireno). Luego, se añade la muestra: si el virus está presente, sus proteínas (antígenos) se unen a esos anticuerpos. Después se agrega un segundo anticuerpo unido a una enzima y, finalmente, se

incorpora un sustrato que la enzima degrada en una reacción visible, cuya intensidad es proporcional al sustrato degradado. Entre más sustrato degradado, implica una mayor interacción antígeno-anticuerpo y, por lo tanto, mayor carga viral y viceversa (**Figura 10**), permitiendo la detección semicuantitativa del patógeno. Los valores semicuantitativos son arrojados por un lector de placas como densidades ópticas (Magaña-Alvarez et al., 2021; Venbrux et al., 2023).

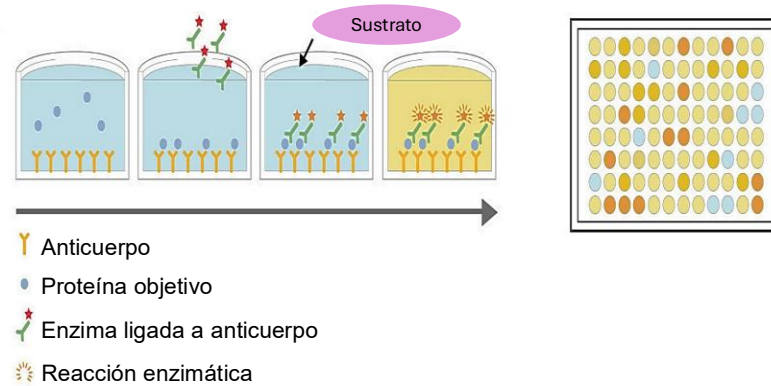


Figura 10. Esquema general de un ensayo ELISA. Adaptado de Venbrux et al., 2023.

Los kits comerciales de ELISA para *T. fructirugosum*, como los desarrollados por Agdia™ o Bioreba™, han sido validados extensivamente contra diferentes aislados virales de múltiples regiones geográficas (Agdia, 2025; Eads et al., 2023). Dentro de las limitantes de las pruebas serológicas es que presentan reacciones cruzadas con otras especies del mismo género (Agdia, 2025; Eads et al., 2023). Otras versiones de ELISA son las pruebas rápidas o inmunoensayos de flujo lateral (ImmunoStrips® y AgriStrip®) que ofrecen resultados rápidos, aunque con limitaciones con respecto a especificidad y sensibilidad (Agdia, 2025; Eads et al., 2023).

2.7.3 Detección basada en el genoma

La detección basada en los ácidos nucleicos virales se ha posicionado como el estándar de referencia en el diagnóstico de plantas enfermas, debido a su alta

especificidad y sensibilidad en diferentes tipos de tejidos, incluidos las semillas donde la concentración viral suele ser extremadamente baja. La detección se fundamenta en la amplificación de secuencias parciales específicas o la secuenciación del genoma completo del virus (ABIOPEP, 2023; CNRF, 2022; ISHI-Veg, 2019; N. M. Salem et al., 2016; van de Vossenberg et al., 2020). Sin embargo, los métodos más utilizados son los basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés, *Polymerase Chain Reaction*), debido a su sensibilidad, accesibilidad, rapidez, costo y confiabilidad. Los protocolos para realizar estos ensayos, requieren un proceso de extracción de RNA optimizado según el tipo de muestra (tejido foliar, frutos o semillas), representando un paso sensible para garantizar resultados confiables (CNRF, 2022; ISHI-Veg, 2019); seguido de cualificar la calidad del RNA extraído mediante parámetros como la relación de absorbancia $A_{260}/A_{280}=1.8-2.0$ y $A_{260}/A_{230}=2.0-2.2$, además de incluir controles con genes endógenos para confirmar la ausencia de inhibidores y así determinar su competencia en ensayos posteriores como la RT-PCR, entre otros (CNRF, 2022; Zamboni et al., 2008).

RT-PCR convencional

Este método de detección se fundamenta en la retrotranscripción del RNA viral y la amplificación de secuencias parciales de genes objetivo mediante PCR (Sarkes et al., 2020). Los protocolos publicados para *T. fructirugosum* tienen como blanco fragmentos conservados del genoma viral tales como la RdRp, MP y CP (CNRF, 2022; NAPPO, 2023). Este tipo de ensayo se utiliza habitualmente para el diagnóstico mediante la visualización de los fragmentos amplificados mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa; sin embargo, cuando se combina con controles y el análisis de la intensidad de las bandas, la técnica también puede emplearse para una determinación semicuantitativa (Antiabong et al., 2016; Marone et al., 2001). Esta técnica permite la purificación de los fragmentos para su posterior secuenciación y comparación en bases de datos tales como NCBI para obtener el porcentaje de identidad al compararla con las depositadas en la base de datos (Ávila-Alistac et al., 2024). Otra variante de esta

técnica es la RT-qPCR (por sus siglas en inglés, quantitative reverse transcription PCR) que presenta una alta sensibilidad, especificidad y además permite la cuantificación relativa y absoluta de la carga viral (ISHI-Veg, 2019; Luigi et al., 2022; NAPPO, 2023). Una versión más actual que ofrece la cuantificación absoluta es la ddPCR (por sus siglas en inglés, digital droplet PCR) (Mazaika & Homsy, 2014).

Filogenia

La filogenia ha sido contextualizada en tres etapas: fenética, genómica y metagenómica. En sus inicios, se basaba en la comparación de fenotipos y, en particular, de caracteres morfológicos. Un avance más se logró con el desarrollo de técnicas moleculares para la obtención de secuencias de ácidos nucleicos y el diseño de softwares para análisis de estas (Pagán, 2018). Esta rama de la biología que trata del estudio de la evolución entre organismos (o genes, proteínas, virus, etc.) actualmente se ve favorecida con la implementación de técnicas como la secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés, Next-Generation Sequencing), que ha permitido la caracterización del viroma de especies cuyos hospederos son plantas y otros organismos. A diferencia de los métodos moleculares convencionales que dependen de oligonucleótidos diseñados previamente, la secuenciación masiva permite obtener información genómica completa del patógeno sin conocimiento previo de las secuencias presentes en la muestra, facilitando además la detección de infecciones mixtas, nuevos hospedantes y la caracterización de nuevas variantes (Nash et al., 2023; Zisi et al., 2025).

En la era de la metagenómica, debido a que muchas veces no se dispone de información biológica o ecológica sobre los virus descubiertos, mediante NGS, el ICTV ha aceptado una propuesta para clasificar y definir a nuevas especies con el uso de análisis filogenéticos basados únicamente en secuencias genómicas completas (Simmonds et al., 2017).

En los análisis filogenéticos existen diversas orientaciones para inferir relaciones evolutivas entre organismos o secuencias. Estos métodos difieren en la manera en que analizan la información contenida en los datos moleculares y en los supuestos que emplean para reconstruir la historia evolutiva. Dentro de este contexto, los métodos de inferencia filogenética pueden clasificarse en varias categorías principales según su enfoque conceptual y fundamento matemático. Entre las más utilizadas se encuentran los métodos basados en distancia, los basados en caracteres y la inferencia bayesiana (Pagán, 2018).

Los métodos basados en distancia (UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) y Neighbor-Joining (NJ)) estiman la cantidad de cambio o distancia evolutiva ocurrida entre cada par de taxones; estos constituyen uno de los enfoques más antiguos en los análisis filogenéticos. Entre las limitaciones de estos métodos, se encuentra la suposición de tasas evolutivas constantes entre linajes y la incapacidad para reconocer múltiples sustituciones en una misma posición de la secuencia, lo que puede reducir la precisión de la inferencia (Kamer & Argos, 1984).

Los métodos basados en caracteres (máxima parsimonia (Maximum Parsimony, MP) y la máxima verosimilitud (Maximum Likelihood, ML)), a diferencia de los anteriores, se apoyan en la comparación de caracteres individuales, evitando la pérdida de información asociada con la conversión de los datos en una matriz de distancias. La parsimonia se fundamenta en el principio de minimizar el número total de cambios evolutivos necesarios para explicar las diferencias observadas entre las secuencias analizadas. Por otro lado, la máxima verosimilitud selecciona la topología del árbol que maximiza la probabilidad de los datos observados bajo un modelo evolutivo específico, permitiendo así realizar comparaciones cuantitativas entre distintas hipótesis filogenéticas (Hillis et al., 1994; Swofford & Sullivan, 2009).

La Inferencia Bayesiana se introdujo a inicios del siglo XXI; ésta, utiliza una función de verosimilitud para estimar la probabilidad posterior de los árboles filogenéticos, combinando probabilidades previas con un modelo de evolución

molecular. Entre sus principales ventajas se encuentran la incorporación explícita de la incertidumbre en las filogenias, la posibilidad de modelar variaciones de tasas entre sitios y linajes, y la consideración de diferentes historias demográficas dentro del análisis. Además, ofrece aplicaciones avanzadas, ya que puede integrarse con la teoría de la coalescencia para incorporar el tiempo de divergencia, con modelos de difusión espacial para analizar la distribución geográfica de los linajes y con la reconstrucción de estados ancestrales para estudiar cambios de hospedante o rasgos biológicos (Drummond & Rambaut, 2007; Huelsenbeck et al., 2001, 2002).

Particularmente en el estudio de los virus, estos análisis se han vuelto fundamentales para entender la diversidad nucleotídica y evolución. Esto permite conocer, inferir e hipotetizar sobre la identificación y clasificación de la diversidad, los mecanismos involucrados en la evolución y la interacción entre la evolución, la epidemiología y la ecología de los virus (Pagán, 2018).

El tipo de reconstrucción filogenética más utilizada en *T. fructirugosum* ha sido Maxima Verosimilitud y en menor medida UPGMA y NJ, para explorar diversos aspectos, tales como identificación (N. M. Salem et al., 2016), para exploración de similitudes y diferencias con otros tobamovirus (Esmaeilzadeh et al., 2023; Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025) y para evidenciar la evolución y adaptación a los hospedantes (Ghorbani, 2024).

RT-PCR cuantitativa

Esta técnica se ha utilizado para la detección de *T. fructirugosum*, debido a que presenta una alta sensibilidad, especificidad y además permite la cuantificación relativa y absoluta de la carga viral (ISHI-Veg, 2019; Luigi et al., 2022; Menzel & Winter, 2021b; NAPPO, 2023). Esta metodología emplea fluorocromos que facilitan el reconocimiento de fragmentos que se amplifican en cada ciclo de PCR; para esto, se utilizan dos métodos principales: uno de ellos, utiliza sondas fluorescentes específicas que se hibridan con la secuencia blanco a amplificar y al ser hidrolizadas durante la amplificación por la polimerasa liberan el

fluorocromo, generando una señal proporcional a la cantidad de producto amplificado acumulado en cada ciclo (**Figura 11**) (Domiat-Saad & Scheuermann, 2006). Los estudios de validación y normalización han evidenciado que este tipo de RT-qPCR ofrece resultados de alta reproducibilidad (ABIOPEP, 2023; CNRF, 2022; NAPPO, 2023). Estudios con diluciones seriadas han demostrado que la esta técnica puede detectar concentraciones extremadamente bajas del virus, con límites cercanos a las 10 copias de RNA viral por reacción (NAPPO, 2023;

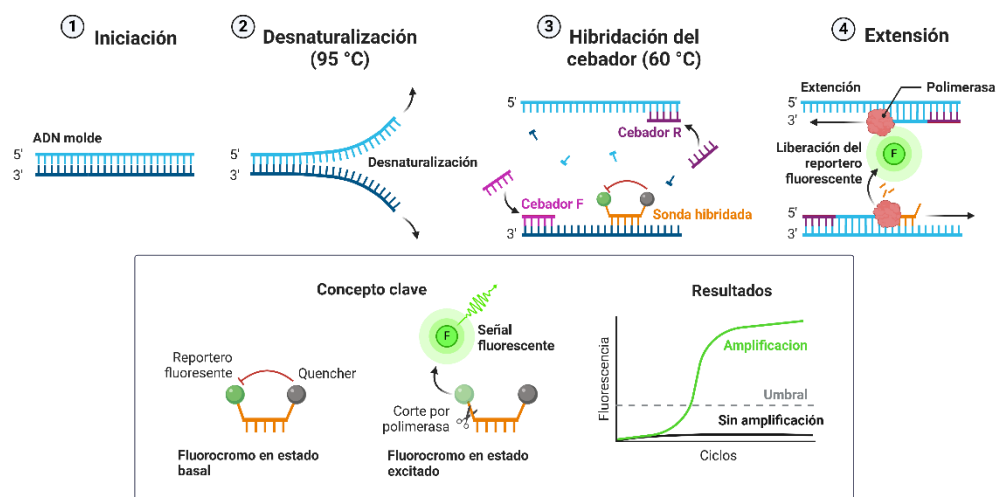


Ilustración: Ruvalcaba-Ramírez, R.

Figura 11. Diagrama del proceso de una qPCR utilizando sondas marcadas con fluorocromos. Creado con BioRender.

Panno et al., 2019).

Otra variante de la técnica es la que utiliza intercalantes como SYBR Green en las moléculas de DNA de doble cadena amplificadas y emiten fluorescencia proporcional a la cantidad de DNA resultante (**Figura 12**) (Zipper, 2004); para el diagnóstico de este enfoque no se encontró información.

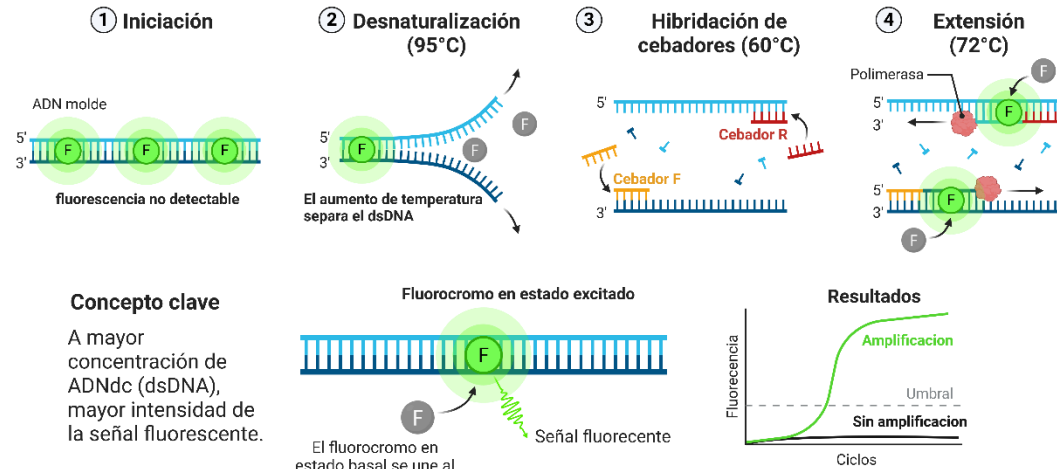


Ilustración: Ruvalcaba-Ramírez, R.

Figura 12. Diagrama del proceso de una qPCR utilizando intercalantes fluorescentes Creado con BioRender.

RT-qPCR múltiplex

El desarrollo de sistemas RT-qPCR múltiplex ha permitido la detección simultánea de diferentes regiones del genoma de *T. fructirugosum*, aumentando la eficiencia de las detecciones. Estos protocolos utilizan diferentes pares de oligonucleótidos y sondas marcadas con fluorocromos específicos, permitiendo la amplificación simultánea de múltiples dianas genómicas (**Figura 13**) (CNRF,

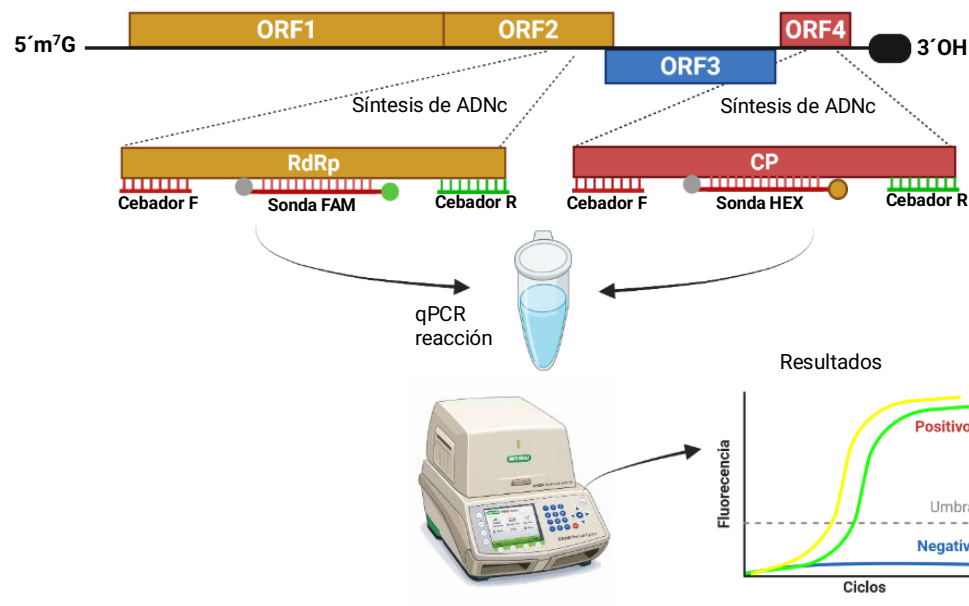


Ilustración: Ruvalcaba-Ramírez, R.

Figura 13. Diagrama de la RT-qPCR múltiplex para la amplificación simultánea de dos ORFs de *T. fructirugosum*. Creado con BioRender.

2022; R. Xu et al., 2016; Z. Yan et al., 2021). Un ejemplo destacado es el método validado por la International Seed Federation (ISF), organización que representa a la industria semillera a nivel mundial y agrupa a la mayor parte del comercio internacional de semilla (alrededor del 96 %) que propone emplear los oligonucleótidos CaTa28-Fw/Rv con su sonda marcada con FAM (fluorocromo verde que emite fluorescencia al ser liberado durante la amplificación) para el ORF3 y los oligonucleótidos CSP1325 Fw/Rv con sonda marcada con HEX (fluorocromo de emisión amarilla al ser liberado durante la amplificación) para el ORF4 (ISHI-Veg, 2019). Este protocolo ha sido adaptado por SENASICA e implementado para el diagnóstico del virus sus laboratorios autorizados (CNRF, 2022).

2.8 EPIDEMIOLOGÍA

Tradicionalmente, la dinámica de las enfermedades de plantas se ha representado con el tetraedro de la enfermedad, que extiende el triángulo clásico (hospedante–patógeno–ambiente) a un cuarto componente: el tiempo (y en algunos casos, las actividades humanas) como clave para el desarrollo y la propagación de la enfermedad (**Figura 14a**) (Agrios, 2004). Sin embargo, en una visión menos antropocéntrica, se considera a las actividades humanas en el cultivo como parte del ambiente y sitúa al tiempo como una dimensión más que como un punto adicional, lo que da lugar al prisma de la enfermedad. En este modelo, se enfatiza el desarrollo de la enfermedad a través del tiempo, definiendo de forma más precisa el concepto de enfermedad y epidemia (**Figura 14b**); por lo tanto, la enfermedad en las plantas puede definirse como “una serie de respuestas, invisibles y visibles de las células y tejidos vegetales, a un organismo patógeno o factor ambiental que provoca cambios adversos en la forma, función o integridad de la planta, lo que conduce al deterioro parcial o la muerte de partes de la planta o de toda ella”. Los tipos de células y tejidos que se ven afectados determinan el tipo de función fisiológica que se verá alterada en primer lugar. Por lo que, al cambio en la intensidad de la enfermedad en una población hospedera

del patógeno a lo largo del tiempo y el espacio se le denomina epidemia, lo cual sugiere que las epidemias son dinámicas (Oliver, 2024).

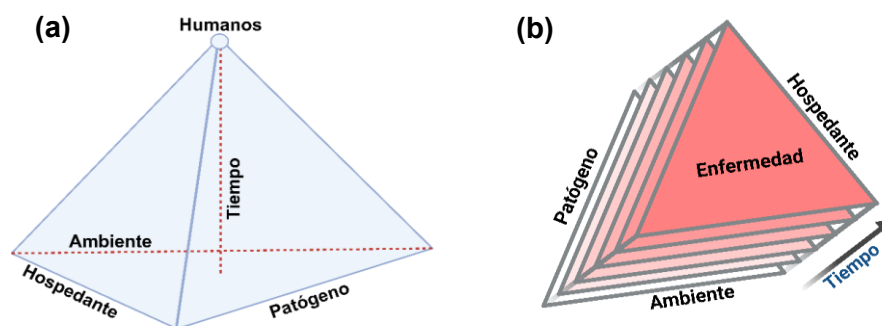


Ilustración: Ruvalcaba-Ramírez, R.

Figura 14. Diagramas de las interrelaciones entre los factores que intervienen en las epidemias de enfermedades vegetales. a. Vision tradicional del tetraedro de la enfermedad; **b.** visión menos antropocéntrica de la configuración de una epidemia. Adaptado de Agrios (2004) y Oliver (2024), respectivamente. Creado con BioRender.

En este contexto, los virus causan enfermedades al utilizar metabolitos celulares durante su multiplicación, ocupando espacio en las células y, sobre todo, alterando procesos celulares como la síntesis ácidos nucleicos y de proteínas. Estos procesos, a su vez, alteran el metabolismo celular y conducen al desarrollo de afecciones perjudiciales para las funciones y la vida de la célula y, a menudo, de todo el organismo (Oliver, 2024). Por lo tanto, la epidemia de *T. fructirugosum*, podría describirse como la interacción entre cultivares susceptibles, inóculo viral y condiciones de manejo/ambiente, que coinciden a lo largo de ciclos sucesivos de cultivo y regiones productoras.

2.8.1 Patógeno

Inóculo viral

Desde el punto de vista infectivo, para una infección efectiva por *T. fructirugosum* requiere la transmisión mecánica de un virión o un genoma vRNA funcional, capaz de producir la proteína de replicasa; a ello se suma una proteína de movimiento operativa y una proteína de cápside estructuralmente competente

(Hak et al., 2023; Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023). En este aspecto, estudios previos realizando diluciones seriadas *T. tabaci* han mostrado que, para que se observe una lesión local en *Nicotiana glutinosa*, se requiere alrededor de setecientos cuarenta y siete millones de viriones por mililitro de partículas infectivas, lo que resalta la alta carga viral necesaria para poder manifestar lesiones visibles a nivel de tejido (Nourinejhad-Zarghani et al., 2024). No obstante, incluso cargas virales elevadas sólo resultan en infección cuando encuentran hospederos susceptibles, de modo que estas propiedades del virus deben considerarse junto con los rasgos genéticos y fisiológicos de la planta para permitir la infectividad de *T. fructirugosum*.

Alteraciones en el metabolismo celular del hospedero

Ante una infección viral (*Virgaviridae: Tobravirus: T. tabaci*) en plantas, diversas rutas metabólicas se ven afectadas, tales como síntesis de proteínas, síntesis RNA y se incrementan los metabolitos involucrados en el estrés, el metabolismo secundario, de lípidos, la división celular, fotosíntesis, regulación del sistema Redox, síntesis del tetrapirrol, entre otros (Fernández-Calvino et al., 2014). Otro género de esta familia es *Tobamovirus* y la especie más ampliamente estudiada es *T. tabaci*, en la cual se ha demostrado que durante la infección la planta hubo un incremento en los niveles de azúcares y ácidos orgánicos asociados al ciclo del ácido tricarboxílico (Bazzini et al., 2011). En otro estudio se determinó que en infecciones de *T. tomatotessellati* en tomate, se detectó la influencia del virus sobre 32 metabolitos, incluyendo aminoácidos y ácidos orgánicos, azúcares, fenilpropanoides y flavonoides (López-Gresa et al., 2012), sin embargo, para *T. fructirugosum*, no se encontró el efecto.

Dentro de los metabolitos influenciados por la infección de los tobamovirus, se encuentran los involucrados en la reacción de hipersensibilidad que limitan la diseminación tisular del virus, sin embargo, se ha evidenciado que el *T. fructirugosum* posee la capacidad de evadir esta respuesta (Tianyuan et al., 2017).

Evasión de la resistencia mediada por Tm-2²

La resistencia proporcionada por el gen Tm-2² se basa en una proteína de tipo NLR (por sus siglas en inglés, Nucleotide-binding Leucine-rich Repeat) que posee un receptor que reconoce la MP del virus y desencadena una respuesta de hipersensibilidad (Tianyuan et al., 2017). Originalmente, en la posición C68 de la MP de los tobamovirus se hallaba una cisteína indispensable (Zhi-Yong Yan et al., 2021). El hospedante identificaba esta cisteína, lo que activaba la resistencia y causaba una reacción de hipersensibilidad (Pelham, 1966; Tianyuan et al., 2017; Weber & Pfitzner, 1998). Esta aparente estabilidad, de más de 60 años, en este aminoácido se originaba porque cualquier variación inhabilitaba la interacción de la MP en los plasmodesmos y, por ende, el movimiento del RNA viral de una célula a otra. No obstante, *T. fructirugosum* reemplazo esta posición funcional en la estructura tridimensional de la proteína (H67) por una histidina (**Figura 15**) y logró eludir la respuesta en cadena de Tm-2² (Hak et al., 2023; Rivera-Márquez et al., 2022; Topcu et al., 2025; Zhi-Yong Yan et al., 2021)

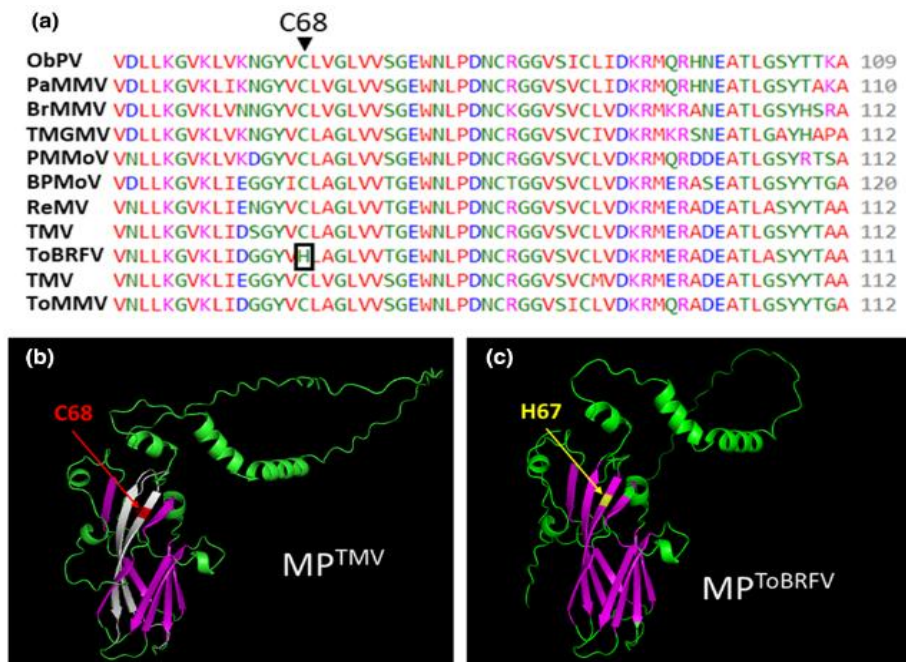


Figura 15. Conservación del residuo C68 en secuencia y estructura de la proteína de movimiento. (a) Alineación de secuencias parciales de proteínas de movimiento (MP) de tobamovirus que infectan solanáceas, mostrando la conservación del residuo C68; (b y c) Modelos tridimensionales predichos por AlphaFold de la MP de TMV (b) y de *T. fructirugosum* (c), en los que se indica la posición estructural del residuo C68 (Hak et al., 2023).

2.8.2 Hospedante

T. fructirugosum afecta principalmente a especies de solanáceas cultivadas. Dentro de estas especies, las variedades comerciales suelen compartir orígenes genéticos similares lo que genera grandes superficies de plantas altamente susceptibles (Luria et al., 2017). Además, la disposición de la fuente de inóculo se ve favorecida por la presencia de malezas de la esta familia y otras especies hospedantes alternativas que actúan como reservorios en los márgenes de los cultivos, permitiendo la disponibilidad virus entre ciclos de producción (N. Salem et al., 2022; S. Zhang et al., 2022a).

La etapa de desarrollo de la planta condiciona la eficiencia de la infección. Aunque el virus puede establecerse mientras la planta se mantenga viva, la transmisión y el establecimiento de infecciones sistémicas se facilitan cuando el contacto con el inóculo viral ocurre en etapas tempranas de crecimiento, particularmente en plántulas y plantas jóvenes, cuyos tejidos meristemáticos y hojas en expansión son más susceptibles, por la alta división celular y la disposición de los metabolitos que permiten la multiplicación, establecimiento, movimiento y la invasión del virus al sistema vegetal (Skelton, Gemert, et al., 2023). Una vez que la planta ha sido invadida, las partículas virales se acumulan en grandes cantidades en los frutos, particularmente en frutos carnosos, lo que promueve su adsorción en la superficie de la semilla (Sastry, 2013).

En *T. fructirugosum*, se ha establecido que su ubicación en la semilla de tomate es exclusivamente externa (**Figura 16**), lo cual se demostró utilizando anticuerpos específicos marcados con fluorescencia y que la tasa de transmisión desde la semilla hasta la plántula es baja (0.08%) a pesar de que la contaminación en semillas es del 100% (N. M. Salem et al., 2022). Una vez establecida la infección primaria, las partículas virales se propagan de manera mecánica en campo o en el invernadero (Levitzky et al., 2019).

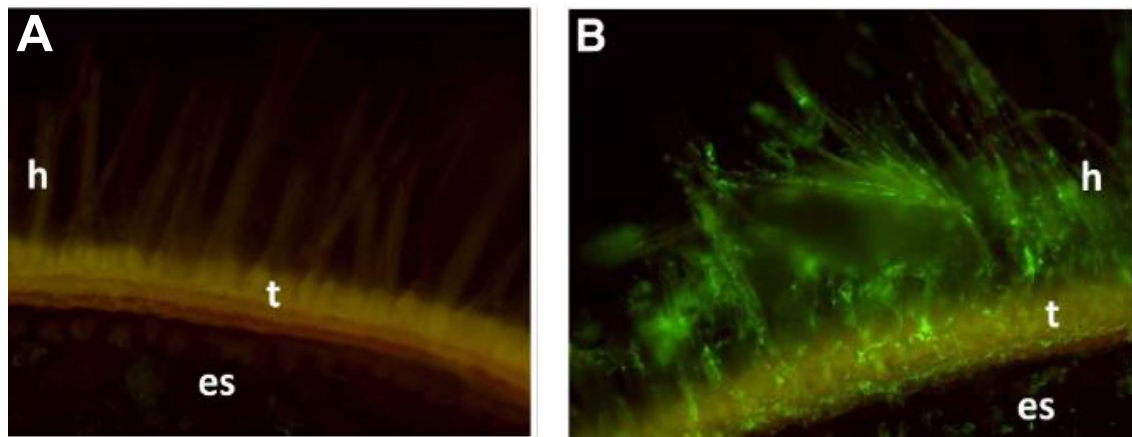


Figura 16. Localización del *T. fructirugosum* en semillas demostrada mediante inmunofluorescencia. A: semilla de tomate sana; **B:** semilla de tomate contaminada; **es:** endospermo; **h:** tricoma; **t:** testa. (N. M. Salem et al., 2022).

Dado que no se conocen vectores naturales (pero si transmisores que acarrean los viriones) para los tobamovirus (M. J. Adams et al., 2016), las semillas son un medio sumamente eficaz para la infección primaria, dado que facilitan una manera eficaz el establecimiento de la enfermedad desde las fases iniciales a través de las plántulas (N. M. Salem et al., 2022).

2.8.3 Ambiente

Temperatura

La temperatura representa uno de los factores ambientales más críticos en la dinámica epidemiológica del *T. fructirugosum*, influyendo tanto en la estabilidad estructural del virus como en su capacidad multiplicativa. Aunque en este virus aún no se han determinado esos factores, investigaciones con *T. mititessellati* (anteriormente conocido como *Tobacco mild green mosaic virus*) variante U2

(TMGMV-U2) revelaron que la respuesta de hipersensibilidad se atenúa o desaparece en plantas cultivadas a 32°C constantes (Muroga et al., 2007). Para el caso de *T. tabaci*, la elevación de la temperatura por encima de 28 °C en plantas de tabaco con el gen *N* infectadas resulta en la supresión de la respuesta hipersensible y la pérdida de resistencia al virus (Király et al., 2008).

Luz solar

La luz solar es la radiación electromagnética emitida por el sol que llega a la Tierra; compuesta principalmente radiación ultravioleta, luz visible y radiación infrarroja y es la principal fuente de energía para los ecosistemas terrestres y es fundamental para procesos como la fotosíntesis, la regulación térmica del planeta y los ritmos biológicos de plantas y animales (Monteith & Unsworth, 2013).

La radiación de la luz puede medirse a partir de diferentes enfoques: la PAR (del inglés *Photosynthetically Active Radiation*) es la porción del espectro electromagnético (400 y 700 nanómetros) que las plantas pueden utilizar para la fotosíntesis (McCree, 1971); la PPFD (del inglés *Photosynthetic Photon Flux Density*) es la métrica más usada para cuantificar la PAR en un punto específico ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, micromoles de fotones por metro cuadrado por segundo) (Ke et al., 2023). El PPF (*Photosynthetic Photon Flux*) mide la cantidad total de fotones PAR emitidos por una fuente luminosa por segundo, expresada en $\mu\text{mol}/\text{s}$; y la DLI (*Daily Light Integral*) integra la PPFD a lo largo de un período de 24 horas y se expresa en $\text{mol}/\text{m}^2/\text{día}$ (Elkins & Van Iersel, 2020).

Los requerimientos de PPFD varían considerablemente entre cultivos y la etapa de desarrollo. En específico, para tomate, las plántulas funcionan óptimamente entre 200–400 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, la fase vegetativa requiere 300-500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, y la etapa de floración-fructificación demanda entre 500-1,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, aunque este valor se modifica por factores como la concentración de CO_2 y la calidad espectral de la luz (Huber et al., 2021). Por lo que, la deficiencia de luz y por lo tanto la poca actividad de los fotosistemas incrementan la susceptibilidad de la plantas a diferentes patógenos; por ejemplo, en *N. benthamiana* al *Potyvirus*

rapae (*Turnip mosaic virus*, TuMV) (Manfre et al., 2011); del mismo modo, la tasa de multiplicación de *T. tabaci* en protoplastos de tabaco bajo condiciones de luz fue varias veces mayor que en oscuridad (Kano, 1985); para el caso de *T. fructirugosum* no se encontró información al respecto.

Humedad relativa

La humedad relativa es la expresión porcentual de la cantidad de vapor de agua presente en el aire con respecto a la máxima posible para unas condiciones dadas de presión y temperatura (ASALE & RAE, s/f). En este contexto, esta humedad influye en la turgencia celular de los tejidos vegetales y en su respuesta ante la infección viral, debido a que una alta cantidad de agua en la célula infectada afecta el movimiento célula a célula y a través del sistema vascular y viceversa cuando hay poca agua disponible (P. Xu et al., 2008).

Lo anterior se demostró al inocular diversas especies vegetales con cuatro virus de RNA: *Bromovirus BMV* (*Brome mosaic virus*, BMV), *Cucumovirus CMV* (*Cucumber mosaic virus*, CMV), *Tobamovirus tabaci* y *Tobravirus tabaci*, sometidas a estrés mediante la suspensión del riego. Los resultados demostraron que la infección viral retrasó la aparición de los síntomas de sequía (P. Xu et al., 2008). Lo anterior puede ser explicado debido a que las hojas de plantas infectadas presentan una reducción en el índice estomático, representando una menor transpiración y demostrando la importancia del contenido de agua celular para la multiplicación y diseminación viral (Murray et al., 2016). Con respecto a *T. fructirugosum* no se encontró información.

Prácticas antropocéntricas que favorecen el desarrollo de la epidemia

El *T. fructirugosum* al igual que otros tobamovirus posee una alta estabilidad a condiciones ambientales extremas, tales como temperaturas bajo congelación (Castello et al., 1999), hasta ebullición por 20 minutos (Ruvalcaba-Ramírez, datos no publicados, 2024). Se ha demostrado que puede permanecer hasta 180 días en diferentes tipos de superficies estructurales de cultivos bajo protección

expuestas a condiciones ambientales (Skelton, Frew, et al., 2023) y aguas residuales (Rosario et al., 2009). Lo anterior indica la importancia de las prácticas de manejo del cultivo para prevenir la transmisión y establecimiento del *T. fructirugosum*. La transmisión de este virus es por daños mecánicos a la superficie de cualquier órgano de la planta, ya sea por actividades de manejo inadvertidas, por fauna silvestre y doméstica, el roce de hojas por el viento, insectos masticadores ocasionados por sus piezas bucales (*Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidóptera: Gelechiidae)) o por polinizadores (*Bombus terrestris* L.) que podrían arrastrar el polen contaminado o al realizar daños mecánicos cuando se posan sobre las plantas y producen vibración mediante las alas y semilla contaminada con restos de pulpa (Chanda, Shamimuzzaman, et al., 2021a; García-Estrada et al., 2022; Levitzky et al., 2019).

Tomando en cuenta lo anterior, el historial del suelo, lavado de superficies, semilla certificada, establecimiento de semilleros, densidad de población, injertos, sanitización de manos, las labores trasplante, poda, entutorado, manejo de polinizadores, deshoje, cosecha, apero de cosecha, ropa, calzado, y disposición de residuos representan oportunidades para la transmisión mecánica del virus, debido a que pueden contaminarse con savia de plantas infectadas y transferir el virus a plantas sanas (Boben et al., 2007; García-Ordóñez & Pagán, 2024; Luria et al., 2017; Mehle et al., 2023; Skelton, Frew, et al., 2023).

2.9 Manejo

2.9.1 Prevención

Dentro del manejo integrado de *T. fructirugosum*, el uso de material vegetal propagativo (semilla botánica, plántula y esquejes sin raíz) con evidencia de pruebas negativas constituye uno de los pilares fundamentales para la prevención y contención de la enfermedad. Este enfoque se sustenta en un principio epidemiológico básico: impedir la introducción del inóculo primario al

sistema de producción. En el caso de *T. fructirugosum*, es altamente estable, lo cual le permite persistir en superficies inertes, donde la contaminación puede darse fácilmente por daños mecánicos y contaminar las plantas durante la manipulación, por lo que la introducción de material infectado constituye el punto de partida de brotes muy difíciles de erradicar una vez establecidos (Skelton, Frew, et al., 2023).

Aunque la transmisión por semilla en tobamovirus se presenta en bajos porcentajes, el riesgo es significativo a escala comercial, ya que un lote con incidencia mínima puede originar múltiples focos en vivero, los que posteriormente se dispersan durante el trasplante, las labores culturales y las prácticas rutinarias de manejo (Ehlers et al., 2023b). En sistemas intensivos, particularmente en invernadero, donde la densidad de plantas es alta y el contacto humano es constante, la diseminación mecánica puede ocurrir con gran rapidez. En consecuencia, el manejo de *T. fructirugosum* debe iniciarse en la selección del material inicial, y no limitarse solamente a las actividades en campo. La producción y adquisición de semillas certificadas y plántulas provenientes de viveros bajo protocolos estrictos de bioseguridad reduce de manera significativa la probabilidad de introducir el virus al sistema productivo. Dado que actualmente no existen tratamientos curativos efectivos para plantas infectadas por este virus, la prevención mediante material inicial libre del patógeno es sustancialmente más eficiente y económicamente viable, que intentar erradicarlo una vez establecido (S. Zhang et al., 2022b).

La importancia del uso de semilla y plántulas sanas es, por lo tanto, fitosanitaria y económica. En este escenario, el costo de implementar pruebas diagnósticas previas a la siembra es considerablemente menor que el costo asociado a las pérdidas de una infección establecida, por lo que la verificación sistemática de material inicial debe considerarse una inversión estratégica dentro del manejo integrado del cultivo (N. M. Salem et al., 2022; S. Zhang et al., 2022b).

A nivel internacional, diversas organizaciones han subrayado el papel crítico del material vegetal propagativo en la epidemiología de *T. fructirugosum*. La North American Plant Protection Organization (NAPPO, por sus siglas en inglés) (NAPPO, 2023) y en paralelo la European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO, por sus siglas en inglés) (EPPO, 2022a) han desarrollado protocolos y estándares armonizados para el muestreo y diagnóstico de semillas de tomate y pimiento, con énfasis en el uso de ensayos de RT-qPCR que permitan asegurar la sanidad en lotes candidatos a movilizar. Por ejemplo, el USDA-APHIS (por sus siglas en inglés, United States Department of Agriculture - Animal and Plant Health Inspection Service) (USDA, 2020) ha emitido órdenes federales que exigen certificaciones fitosanitarias con dictámenes negativos para *T. fructirugosum* en envíos de semillas y plantas para plantación; de manera similar México, a través del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) ha establecido protocolos específicos de diagnóstico en material vegetal propagativo candidato a ingresar al país mediante cuarentenas exteriores (CNRF, 2022).

2.9.2 Control legal

El *T. fructirugosum* en México, posterior a su detección SENASICA lo clasificó como Plaga No Cuarentenaria Reglamentada (PNCR), a pesar de su potencial para ocasionar pérdidas económicas en cultivos de solanáceas (García-Romero & Bocanegra-Flores, 2018). Con base en esta clasificación, el virus *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) fue incorporado a las hojas de requisitos fitosanitarios para la importación de material vegetal propagativo de algunas solanáceas, y se estandarizó un protocolo oficial de diagnóstico aplicado a sus laboratorios autorizados que realizan diagnóstico fitosanitario a muestras tanto de follaje como de semilla botánica (CNRF, 2022; SENASICA, 2019); de pimiento (*Capsicum spp.*): semilla, esquejes sin raíz, plantas y plántulas; de tomate (*S. lycopersicum*): semillas, plántulas y plantas; y semilla de berenjena (*S. melongena*) (SENASICA, s/f); de esta manera, aunque el virus no se encuentra bajo un esquema de erradicación nacional, el comercio internacional de material

vegetal propagativo está sujeto a regulación oficial. La producción y uso de semillas provenientes de variedades resistentes o tolerantes se ha convertido en una estrategia complementaria de gran importancia.

2.9.3 Control genético

El empleo de variedades mejoradas ha sido ampliamente utilizado para generar líneas comerciales de tomate con diferente comportamiento ante el virus que van de la resistencia intermedia a la alta. El uso de variedades resistentes constituye un componente clave dentro del manejo integrado del cultivo de tomate; debido a que actualmente no existe una resistencia absoluta, la resistencia (tolerancia) genética no debe considerarse como la única estrategia de manejo; sin embargo, aporta una barrera biológica adicional que limita el establecimiento del virus y modula la severidad de la expresión de la enfermedad que causa tanto en campo como en invernadero en etapas fenológicas iniciales del cultivo. Desde una perspectiva epidemiológica, las variedades con resistencia pueden contribuir a disminuir la expresión sintomática (y, por ende, el impacto económico), reducir la tasa de multiplicación viral y, potencialmente, atenuar la dinámica de transmisión mecánica de este patógeno (Sánchez-Sánchez et al., 2023; Zinger et al., 2025).

Las principales casas semilleras comerciales con presencia en México han incorporado al mercado variedades con distintos niveles de resistencia a *T. fructirugosum* (**Cuadro 2**). Estos materiales han sido desarrollados para los principales tipos de tomates (bola, saladette, cherry, grape y racimo) y buscan mantener la productividad y calidad del fruto aun con infección viral.

Cuadro 2. Relación de empresas que distribuyen semillas de variedades y tipos tomate con diferentes niveles de resistencia.

Empresa	Variedad	Tipo	Nivel de resistencia	Fuente
BASF	Vitalion	Cherry	Intermedia	(BASF, 2026)
	Teenon F1	Grape	Intermedia	
	Azovian	Saladette	Intermedia	
	Blindon	Saladette	Intermedia	
	Brovian	Saladette	Intermedia	
	Strongton	Saladette	Intermedia	

Bayer	Drth2913	Bola	Intermedia	(Bayer, 2026)
	Drth5075	Bola	Alta	
	Ferreira	Bola	Alta	
	Futumaru	Bola	Alta	
	Novero	Bola	Intermedia	
	Riboski	Bola	Alta	
	Drth9517	Cocktail	Intermedia	
	Strabini	Cocktail	Intermedia	
	Grandice RES	Racimo	Alta	
	Luminity	Racimo	Alta	
	Serenity	Racimo	Alta	
	E15b.43396	Heirloom	Alta	
	E15b.43407	Heirloom	Alta	
Enza Zaden	Fogo (E16R.42956)	Porta injerto	Alta	(Enza Zaden, 2025)
	Tomagino seram	Cherry	Alta	
	Fraser paradise	Cherry	Alta	
	Saint anna	Cocktail	Alta	
	Macapule	Bola	Alta	
	Marieta (E15B.51359)	Bola	Alta	
	Atolon (E15B.51382)	Bola	Alta	
	Pascua	Grapes	Alta	
	Icaria (E15C.42988)	Grapes	Intermedia	
	Goldstream (E15C.43442)	Grapes	Intermedia	
	Corcega (E15C.43445)	Grape	Intermedia	
	Serifos (E15C.43447)	Grape	Intermedia	
	Martinique	Racimo	Alta	
	Perimos	Racimo	Alta	
	Rhodium	Racimo	Alta	
	Formoza	Racimo	Alta	
	Azores	Roma	Alta	

	Cedros	Roma	Alta	
	San Blas (e15m.43246)	Roma	Alta	
HM.Clause	Fleming F1	Bola	Intermedia	(HM.CLAUSE, 2026)
	Intuitivo F1	Cherry	Intermedia	
	Curioso F1	Cherry	Intermedia	
	Freeman F1 (HMC 44616)	Saladet	Intermedia	
	Centinela F1 (HMC 44617)	Saladet	Intermedia	
	HMC 44441 F1	Saladet	Intermedia	
Hazera	Giubilo	Cherry	Intermedia	(Hazera, 2026)
	Summer soul	Cherry	Intermedia	
	Tentadero	Cherry	Intermedia	
	Canelo	Saladette	Intermedia	
	Herederero	Saladette	Intermedia	
Rijk Zwaan	Hyrule rz f1 (72-ch0359)	Cherry	Alta	(Rijk Zwaan, 2026)
	Lucioso rz f1 (72-ck0620)	Cocktail	Intermedia	
	Rexoso rz f1 (72-ck0622)	Cocktail	Intermedia	
	Valerioso rz f1 (72-ck0621)	Cocktail	Intermedia	
	Ferguson rz f1 (72-bf0637)	Bola	Intermedia	
	Patzcuaro rz f1 (72-bf0636)	Bola	Alta	
	Sanpavel rz f1 (72-im6773)	Racimo	Intermedia	
	Parisetto rz f1 (72-mp0033)	Grape	Intermedia	
	Balthasetto rz f1 (72-mp0034)	Grape	Intermedia	
	Benvolietto rz f1 (72-mp0032)	Grape	Alta	

	Calchetto rz f1 (72-mp0047)	Grape	Alta	
	Camiletto rz f1 (72-mp0046)	Grape	Alta	
	Romietto rz f1 (72-mp0031)	Grape	Alta	
Sakata	Fleming F1	Bola	Intermedia	(Sakata, 2026)
	Chocostar F1	Cocktail	Intermedia	
	Lemonstar F1	Cocktail	Intermedia	
	Luciestar F1	Cocktail	Intermedia	
	Royalstar F1	Cocktail	Intermedia	
	Aguilar	Racimo	Intermedia	
	Mosquetero	Saladet	Intermedia	
	Zapata	Saladet	Intermedia	
	Barosor	Bola	Intermedia	
	Guaynot	Saladette	Intermedia	
Syngenta	Valinor	Saladette	Intermedia	(Syngenta, 2026)
	Baldomero	Racimo	Intermedia	
	Climundo	Racimo	Intermedia	
	Crystelle	Racimo	Intermedia	
	Emyelle	Racimo	Intermedia	
	Tobias	Bola	Intermedia	
	Flaminia	Bola	Intermedia	
Yukssel Seeds	Victoria	Bola	Intermedia	(Yukssel Seeds, 2026)
	Tobtoma	Bola	Intermedia	
	211-312	Bola	Intermedia	
	211-325	Bola	Intermedia	
	222-227	Bola	Intermedia	
	222-234	Bola	Intermedia	
	Tobrossa	Heirloom	Intermedia	
	Tobchoco	Heirloom	Intermedia	
	232-766	Heirloom	Intermedia	
	212-855	Heirloom	Intermedia	
	Sweetloom	Heirloom	Intermedia	
	Umay	Cherry	Intermedia	
	Tobralina	Cherry	Intermedia	
	Tobrain	Cherry	Intermedia	
	Tobcherry	Cherry	Intermedia	
	Sirali	Cherry	Intermedia	

Tobforta	Cherry	Intermedia
192-963	Cherry	Intermedia
Romy 406	Cherry	Intermedia
Chick	Cherry	Intermedia
Zitronina	Cherry	Intermedia
Purpurina	Cherry	Intermedia
Chocolina	Cherry	Intermedia
Sambalino	Cherry	Intermedia
Tomblack	Cocktail	Intermedia
Tobcocktail	Cocktail	Intermedia
Toboal	Cocktail	Intermedia
Kerry	Racimo	Intermedia
Tobpearl	Racimo	Intermedia
Estefano	Racimo	Intermedia

Acciones en campo

En el manejo de *T. fructirugosum* en sistemas intensivos en cultivos de tomate y pimiento, el punto de acceso al invernadero debería concebirse como un filtro, más que como una simple puerta de entrada. Esto implica, en primer lugar, definir con claridad quién puede ingresar a cada área productiva y en qué condiciones. Los registros de ingreso de personal autorizado (personal de rutina, técnicos internos, personal de sanidad, asesores externos y visitas) permite establecer distintos niveles de acceso y restringir la presencia innecesaria de personas en los módulos de producción. Asociado a esto, el registro sistemático de entradas y salidas resulta fundamental para poder definir la trazabilidad; lo que, ante la detección de un foco, esta información permite reconstruir rutas potenciales de introducción. El control de movimiento no debe limitarse a la frontera entre afuera y adentro, sino también considerar los desplazamientos internos del personal operario; establecer reglas claras, como evitar que el personal transite libremente entre módulos con distinto estatus sanitario o priorizar siempre flujos desde áreas de menor riesgo hacia áreas de mayor riesgo, reduce la probabilidad de trasladar inóculo de un bloque contaminado a otro libre. En algunos casos, puede ser necesario que ciertos operarios se asignen de manera exclusiva a un módulo, o que solo puedan cambiar de nave tras un protocolo completo de cambio de ropa y desinfestación (CFIA, 2017).

Tomando en cuenta lo anterior, se recomienda que cada invernadero o bloque tenga una doble puerta oficial de entrada señalizada, donde se concentren todos los elementos de higienización y control. Esta puerta se convierte en un punto crítico de control a supervisar para todo aquel personal que ingrese, lo que facilita la aplicación uniforme de las medidas. Dentro de este módulo de acceso, el uso de tapetes sanitarios constituye una primera línea de defensa frente a la entrada inadvertida de partículas virales adheridas a la ropa y al calzado. Los tapetes deben contener soluciones desinfectantes eficientes para tobamovirus (**Cuadro 3**); es indispensable que el personal esté capacitado para usarlos correctamente, evitando rodearlos o pasar apresuradamente sin permitir un contacto efectivo entre el desinfectante y el calzado. Cuando se emplea calzado dedicado para cada módulo, el cambio puede realizarse inmediatamente después del tapete, de manera que las botas de uso interno nunca toquen el exterior (CFIA, 2017).

De forma paralela, las estaciones de desinfestación de manos y guantes son esenciales para reducir el riesgo de transmisión mecánica de *T. fructirugosum* a través del contacto directo con las plantas. La colocación estratégica de dispensadores de soluciones sanitizantes (**Cuadro 3**) justo antes de cruzar a la zona de cultivo refuerza la rutina de higienización al ingreso. Establecer como norma que toda persona debe desinfestarse las manos o guantes antes de entrar al invernadero y al pasar entre áreas internas, contribuye a disminuir la probabilidad de que partículas virales presentes en la piel o en el material de los guantes se depositen en tallos, hojas o frutos. En labores de alto contacto, como deshoje, poda o tutorado, se deben intensificar estas medidas, incorporando cambios periódicos de guantes y desinfestaciones adicionales entre surcos o sectores.

Cuadro 3. Productos utilizados para desestabilizar los viriones en superficies contaminadas por *T. fructirugosum* en diversos estudios.

Ingrediente Activo	Referencia
Hipoclorito de sodio (0.5-10%)	(Chanda, Shamimuzzaman, et al., 2021b; Ling et al., 2022; Rodríguez-Díaz et al., 2022)
Peroximonosulfato de potasio	(Chanda, Shamimuzzaman, et al., 2021b; Ling et al., 2022)
Sales cuaternarias de amonio + glutaraldehído	(Chanda, Shamimuzzaman, et al., 2021b; Ling et al., 2022; Zamora-Macorra et al., 2025)
Peróxido de hidrógeno	(Chanda, Shamimuzzaman, et al., 2021b)
Etanol / isopropanol 70%	(Chanda, Shamimuzzaman, et al., 2021b; Rodríguez-Díaz et al., 2022)

Lo anterior, puede complementarse con el uso de ropa y calzado exclusivos por área. Inmediatamente después de las estaciones de desinfección se puede disponer de espacios designados donde el personal se cambie de overoles, batas, botas y gorros exclusivos de ese invernadero o bloque. Concebido de esta manera el acceso, junto a una capacitación y concientización eficaz del personal, deja de ser un punto crítico de control y se transforma en un filtro (punto de control) que reduce de forma sistemática la entrada de inóculo de *T. fructirugosum* al sistema productivo.

2.9.4 Monitoreo y diagnóstico

En un esquema de manejo (prevención - detección - contención - erradicación) de *T. fructirugosum*, la detección temprana se sostiene en cuatro componentes interrelacionados: monitoreo sistemático, capacitación del personal para reconocer síntomas, toma de muestra y confirmación diagnóstica confiable.

En primer lugar, el monitoreo debe ser planificado y continuo. Esto implica establecer recorridos de inspección periódicos por parte de personal designado, con rutas y frecuencias definidas según la etapa fenológica y el historial del invernadero. Durante estos recorridos observar de manera sistemática hojas jóvenes, ápices, pecíolos, pedúnculos y frutos, buscando mosaicos, rugosidad, deformación, clorosis y otras alteraciones en la coloración y textura, respectivamente. La detección de plantas con síntomas iniciales permitirá focalizarlas de inmediato, limitar el contacto con ellas y proceder a la toma de muestras. Un monitoreo bien diseñado también incluye la revisión de plántulas en viveros germinadores y de nuevos lotes recién trasplantados, ya que estas son etapas críticas para la introducción del virus a un sistema (**Figura 17**) (EPPO, 2022b).



Ilustración: Ruvalcaba-Ramírez, R.

Figura 17. Estados fenológicos del tomate y susceptibilidad a *T. fructirugosum*. Creado con BioRender para este estudio.

Sin embargo, el monitoreo solo es efectivo si va acompañado de una capacitación adecuada del personal de muestreo y otros operarios para reconocer síntomas virales. Los operarios de campo son quienes tienen contacto directo y diario con las plantas, de modo que su capacidad para identificar síntomas es esencial para la detección temprana. La formación debe incluir imágenes claras de síntomas típicos y atípicos, diferencias con otras virosis o fisiopatías (toxicidades, deficiencias nutrimentales, desordenes genéticos, alteraciones causadas por fluctuaciones ambientales, etc.), y ejemplos de cómo se manifiesta la enfermedad en distintas variedades, estado fenológico del cultivo y condiciones ambientales. Además, es importante que el personal conozca qué hacer ante una planta sospechosa: no manipularla más y evitar continuar labores en plantas

adyacentes sin cambiar de guantes o desinfectar herramientas, y reportar de inmediato al responsable técnico para la evaluación y toma de muestra. Otras medidas alternativas son la elaboración y distribución de materiales audiovisuales y cursos breves específicamente dirigidos a productores y trabajadores para mejorar esta capacidad de reconocimiento y respuesta temprana.

Una vez detectadas las plantas sospechosas, el siguiente paso es un muestreo dirigido que recoja tejido representativo (hojas jóvenes, pecíolos, flores o frutos afectados) siguiendo procedimientos que eviten la diseminación del virus durante la toma de muestras. Estas muestras deben enviarse a un laboratorio acreditado que utilice métodos validados para el diagnóstico viral basado en RT-PCR convencional o RT-qPCR, que han demostrado alta sensibilidad y especificidad tanto en tejido vegetal como en semillas (CNRF, 2022); por otro lado, las pruebas de ELISA o inmunoensayos de flujo lateral (ImmunoStrips® y AgriStrip®) ofrecen resultados rápidos, aunque con limitaciones de especificidad y sensibilidad (Agdia, 2025; Eads et al., 2023); sin embargo la confirmación de la presencia del virus da sustento a la toma de decisiones de erradicación, destrucción de focos de infección e intensificación en la vigilancia de medidas de higiene.

2.9.5 Erradicación

En cuanto se confirma la presencia del virus en un lote o bloque, las plantas afectadas (incluyendo hojas, tallos, frutos y raíces) deben ser retiradas de manera inmediata, ya que permite eliminar fuentes de inóculo y reducir el riesgo de propagación mecánica dentro del sistema productivo. Esta operación debe realizarse utilizando herramientas y guantes desechables o desinfectados entre plantas (EPPO, 2022a). Es fundamental que el personal involucrado en la remoción siga protocolos estrictos de bioseguridad, evitando el contacto directo con las plantas infectadas y asegurando que los restos no se acumulen en pilas abiertas cerca de áreas de producción, ya que estos pueden servir como reservorios de inóculo viable durante semanas o meses si no se gestionan correctamente.

La disposición de residuos debe garantizar la inactivación completa del virus o su confinamiento seguro para evitar la reintroducción al sistema productivo. Los métodos sugeridos incluyen la incineración controlada en sitio autorizado, el entierro a más de un metro de profundidad en fosas alejadas de las zonas de cultivo, o el traslado a rellenos sanitarios en contenedores dobles o bolsas selladas que impidan la dispersión durante el transporte (APHIS, s/f). En algunas circunstancias, el compostaje controlado de material vegetal infectado con *T. tabaci* pierde su viabilidad si se cumplen condiciones específicas de temperatura superior a 68 °C durante al menos 20 días; aunque su uso de esta composta requiere validación previa para asegurar la inactivación del virus y debe evitarse en residuos de alta carga viral (Noble & Roberts, 2004).

2.9.6 Activadores de resistencia y sanitizantes

En el contexto del manejo mediante productos comerciales que incluyen algunos productos químicos y otros biológicos dirigidos a *T. fructirugosum*, cabe aclarar que unos van dirigidos a modular la respuesta de la planta y otros orientados a desestabilizar viriones en superficies contaminadas. Diversos estudios han evaluado el uso de activadores de resistencia y bioproductos aplicados directamente al cultivo (**Cuadro 4**), los cuales, si bien no eliminan el virus, pueden reducir la severidad de los síntomas, funcionando como herramientas complementarias dentro del manejo integrado.

Cuadro 4. Relación de activadores de resistencia y bioproductos evaluados en diversos estudios para el manejo de *T. fructirugosum*.

Tipo de producto	Referencia
Ácido salicílico (AS)	(Hernández-Santiago et al., 2020)
Acibenzolar-S-metil	(Hernández-Santiago et al., 2020)
Quitosano	(El Gamal et al., 2022)
Extractos de algas marinas	(Hernández-Santiago et al., 2020)
PGPR (por sus siglas en inglés, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria)	(Ramos-Villanueva et al., 2023)
Elicitores bacterianos	(Hernández-Santiago et al., 2020)

<i>Trichoderma spp.</i>	(Ramos-Villanueva et al., 2023)
Mezclas de macro y micronutrientes	(Hernández-Santiago et al., 2020)

Por otra parte, los productos orientados (**Cuadro 3**) a desestabilizar viriones en superficies contaminadas constituyen la base de las estrategias de bioseguridad para inactivar partículas virales presentes en herramientas, estructuras y otros elementos del sistema de producción (Ehlers et al., 2023b), lo que resulta esencial para interrumpir la contaminación y la posterior transmisión mecánica por operarios en invernaderos e instalaciones.

Sanitización de superficies de contacto durante las labores culturales

La sanitización de superficies, herramientas de trabajo y manos representa una de las medidas más críticas dentro del manejo integrado de tobamovirus, dado que la transmisión mecánica es la principal vía de dispersión de estos virus en sistemas intensivos de producción protegida de tomate y pimiento. La estabilidad excepcional del virus hace que la sanitización sistemática de estas superficies sea indispensable para interrumpir las rutas de propagación asociadas al manejo cultural. Un plan efectivo de sanitización debe identificar primero las superficies críticas de contacto dentro del sistema productivo, estos pueden ser: tijeras, cuchillos, podadoras, alambres de tutorado, rafia, clips, mesas de trabajo, carros de transporte, manijas de puertas, pasamanos, charolas, bandejas, sistemas de riego, estructuras de soporte, plásticos y superficies de pasillos (Melcher et al., 2021; S. Zhang et al., 2022b). Una vez identificados, establecer un calendario de sanitización con productos químicos adecuados contra el virus (**Cuadro 3**), según su nivel de uso y riesgo de contaminación para establecer la trazabilidad en caso necesario.

2.9.7 Manejo de agua, fertilización y sustratos

Agua

La sanidad del agua en sistemas de riego y soluciones nutritivas constituye un componente esencial dentro del manejo integrado de *T. fructirugosum*, especialmente en cultivos hidropónicos o semi-hidropónicos donde el agua puede ser recirculada, esta puede actuar como vehículo de diseminación viral a gran escala. Aunque la transmisión directa por agua es menos frecuente que la mecánica por contacto, la estabilidad prolongada del virus en soluciones acuosas implica que el agua contaminada puede servir como reservorio de inóculo y transportar partículas virales desde focos iniciales hacia plantas sanas a través de sistemas de goteo o fertirriego (Mehle et al., 2023; Zhou et al., 2024).

Los métodos de tratamiento deben priorizar tecnologías que inactiven el virus sin comprometer la calidad del agua para el riego. La cloración controlada con hipoclorito de sodio o hipoclorito de calcio ha demostrado eficacia para reducir cargas virales en sistemas de recirculación, aunque requiere monitoreo continuo para evitar fitotoxicidad y formación de subproductos; aunado a su inactivación con la presencia de materia orgánica. Los sistemas de oxidación basados en peróxido de hidrógeno estabilizado o mezclas con ácido peracético ofrecen una alternativa más selectiva; estudios confirman su capacidad para inactivar tobamovirus en agua sin dejar residuos perjudiciales para las raíces. La ozonización y la radiación UV también han sido validadas como métodos físicos efectivos, particularmente en sistemas de recirculación cerrados donde se busca eliminar patógenos sin alterar el pH o la conductividad eléctrica de la solución nutritiva (Runia & Boonstra, 2004; Runia, 1994, 1995; Zhou et al., 2024).

Fertilización

Aunque la fertilización no actúa como medida de control directo sobre el virus, sí influye en la expresión de síntomas y en la capacidad de la planta para tolerar la infección. Es importante evitar esquemas de fertilización que generan un

excesivo crecimiento vegetativo o desequilibrios nutricionales marcados (por ejemplo, exceso de nitrógeno con desbalances de potasio y calcio), ya que estas condiciones pueden aumentar el impacto de la infección en rendimiento y calidad de fruto. Un plan de fertilización equilibrado, ajustado a la demanda del cultivo y basado en análisis de suelo, agua y tejido, contribuye a mantener plantas con un estado nutricional óptimo donde el cultivo responde mejor a las medidas de manejo implementadas (por ejemplo, activadores de resistencia) (**Cuadro 5**); por otro lado, los síntomas virales son más claramente discernibles para propósitos de detecciones tempranas y toma de decisiones respecto al manejo de focos de infección (Dordas, 2009; Sharma et al., 2022).

Cuadro 5. Tipo de bioestimulantes usados en la agricultura y nombres comerciales.

Tipo	Ejemplos de productos comerciales
Aminoácidos	XP-Amino®, AA 80%®, AminoPlex®, Aminex®
Ácidos húmicos	H-85®, Humic-12®, Humitron 12%®, Carbumic®, Humicel®.
Ácidos fúlvicos	FulvicProtect®, K-Tionic®, Fulvic Plus®, Pilatus®.
Fitohormonas	Biozyme TF®, Kelpak®, Stimulate®, BioGib® 10 PS®.

Sustrato

El manejo de los tobamovirus en el suelo representa un desafío importante debido a la alta estabilidad de sus partículas, que pueden persistir durante varios meses en restos vegetales y más de un año en partículas arcillosas del suelo; los viriones contaminan el sustrato a través de los residuos vegetales infectados, agua, por savia contaminada liberada a través de heridas mecánicas, contenedores no sanitizados, entre otros. La infección de estos virus a las plantas ocurre principalmente por vía mecánica, a través de heridas generadas en las raíces durante el trasplante o por el contacto directo con suelo contaminado, lo

que convierte al suelo en un reservorio epidemiológicamente relevante de estos virus (Molad et al., 2024).

Las estrategias de manejo de tobamovirus en el suelo se agrupan en cuatro ejes. En primer lugar, la desinfestación química del suelo mediante productos a base de cloro, han mostrado reducir el inóculo primario; formulaciones comerciales con dicloroisocianurato de sodio o trocloseno de sodio, han demostrado una alta eficacia para disminuir la “viabilidad” de *T. fructirugosum* y *T. viridimaculae* en cultivos de tomate y pepino, respectivamente (Chanda, Shamimuzzaman, et al., 2021b). De manera similar, se ha desarrollado una formulación de fosfato trisódico clorado al 3%, que resulta altamente efectiva para inactivar *T. fructirugosum* y que, a diferencia de las soluciones de solo fosfato trisódico, no presenta fitotoxicidad en plántulas de tomate; su modo de acción combina tres efectos: el efecto surfactante del fosfato, el pH alcalino que desestabiliza proteínas virales y la acción oxidante del hipoclorito (Molad et al., 2024).

En segundo lugar, se consideran los tratamientos físicos y rotación de cultivos. La vaporización del suelo puede inactivar viriones en capas superficiales, aunque con frecuencia requiere la adición de compuestos exotérmicos, como hidróxido de potasio (KOH), para alcanzar temperaturas que inactiven las partículas virales a mayor profundidad. A nivel de manejo agronómico, la rotación de cultivos con especies no hospedantes ha mostrado reducir significativamente la acumulación de *T. viridimaculae* en plantaciones de cucurbitáceas; por ejemplo, la rotación sandía-arroz disminuyó la incidencia del virus respecto al monocultivo continuo de sandía (Smith & Dombrovsky, 2020). Por otro lado, el aislamiento físico resulta ser una medida importante, mediante la incorporación de composta libre de virus en los orificios de plantación previo al trasplante, ya que aísla las raíces jóvenes y potencialmente heridas durante el trasplante del contacto directo con suelo contaminado (Smith & Dombrovsky, 2020).

2.9.8 Estrategias a futuro

Otras medidas de manejo contemplan la creación y utilización de variedades modificadas genéticamente, ya sea por ingeniería genética o la edición de genes mediante la tecnología de CRISPR/Cas9 contra el virus. Otro enfoque sugerido es la protección cruzada mediante la utilización de fuentes de inóculo atenuadas, sin descuidar los efectos colaterales que implica (Smith & Dombrovsky, 2020).

Una nueva estrategia de control molecular del virus recién probada para el manejo de *T. fructirugosum*, es la aspersión de dsRNA de alta calidad (hq-dsRNA) homólogo a secuencias del genoma (RdRp, MP y CP) de este virus. Este dsRNA es producido *in vivo* en el bacteriófago phi6 con fragmentos del genoma de este virus y luego inoculado en *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* para generar grandes cantidades y luego aislarlo y aplicarlo. Este sistema permite producir dsRNA puro y estable a bajo costo, facilitando su aplicación foliar directa en cultivos de tomate mediante aspersión convencional. Esta estrategia fortalece el sistema de defensa de la planta mediante el silenciamiento génico específico, dado que el dsRNA exógeno se procesa en siRNAs que guían a las proteínas argonautas para degradar selectivamente el RNA viral y bloquear su traducción. Otro de los mecanismos es la activación de la PTI; donde el dsRNA actúa como PAMP, siendo percibido por receptores de la planta, lo que desencadena la acumulación de callosa en plasmodesmos y restringe físicamente el movimiento del virus célula-célula. Ensayos han demostrado la reducción significativa de los niveles de RNA viral cuantificados por RT-qPCR así como la severidad de los síntomas. Los fragmentos de dsRNA dirigidos contra las secuencias codificantes para la RdRp mostraron la mayor eficiencia protectora, inhibiendo la capacidad replicativa del virus y limitando su movimiento sistémico en la planta (Weiss et al., 2026).

2.10 REFERENCIAS

- Abel, P. P., Nelson, R. S., De, B., Hoffmann, N., Rogers, S. G., Fraley, R. T., & Beachy, R. N. (1986). Delay of Disease Development in Transgenic Plants That Express the Tobacco Mosaic Virus Coat Protein Gene. *Science*, 232(4751), 738–743. <https://doi.org/10.1126/science.3457472>
- ABIOPEP. (2023). *TESTING OF TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS BY REAL-TIME RT-PCR*. https://eurlplanthealth.nl/file/download/e7dde713-181c-4363-aabe-031aa39873e7/20231214_tomato_brown_rugose_fruit_virus_validation_real-time_rt-pcr_bernabe-orts-et-al.pdf
- Adams, M., & Antoniw, J. (2005). *DPVweb: An open access internet resource on plant viruses and virus diseases*. <https://dpvweb.net/>
- Adams, M. J., Kumar, A., Mandal, B., Salem, N., Turina, M., Adkins, S., Bragard, C., Gilmer, D., Li, D., MacFarlane, S. A., Man, W. S., Melcher, U., Ratti, C., & Ryu., K. H. (2016). *Create two new species in the genus Tobamovirus, family Virgaviridae* (2016.001aP; p. 5). ICTV. https://ictv.global/proposals-16/2016.001aP.A.v2.Tobamovirus_2sp.pdf
- Agdia. (2025). *Validation Report: ELISA Test Kits for ToBRFV (Tomato brown rugose fruit virus)*. <https://d163axztg8am2h.cloudfront.net/static/doc/3b/16/617d14a756986b2b318090b55f1c.pdf>
- Agrios, G. N. (2004). *Plant Pathology*. <https://shop.elsevier.com/books/plant-pathology/agrios/978-0-08-047378-9>
- Alkowni, R., Alabdallah, O., & Fadda, Z. (2019). Molecular identification of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Palestine. *Journal of Plant Pathology*, 101(3), 719–723. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00240-7>

- Antiabong, J. F., Ngoepe, M. G., & Abechi, A. S. (2016). Semi-quantitative digital analysis of polymerase chain reaction electrophoresis gel: Potential applications in low-income veterinary laboratories. *Veterinary World*, 9(9), 935–939. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.935-939>
- APHIS. (s/f). *Strategies for Preventing the Introduction and Spread of Tomato Brown Rugose Fruit Virus*.
- ASALE, R.-, & RAE. (s/f). *Humedad | Diccionario de la lengua española*. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. Recuperado el 27 de febrero de 2026, de <https://dle.rae.es/humedad>
- Ávila-Alistac, N., Mora-Aguilera, G., Lozoya-Saldaña, H., Zamora, E. J. Z.-M., & Hernández-Juárez, C. (2024). Genetic variability of two Mexican Tomato brown rugose fruit virus isolates and expression of symptoms in tomato and pepper. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 1–12. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2311-2>
- Bazzini, A. A., Manacorda, C. A., Tohge, T., Conti, G., Rodriguez, M. C., Nunes-Nesi, A., Villanueva, S., Fernie, A. R., Carrari, F., & Asurmendi, S. (2011). Metabolic and miRNA Profiling of TMV Infected Plants Reveals Biphasic Temporal Changes. *PLoS ONE*, 6(12), e28466. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028466>
- Boben, J., Kramberger, P., Petrovič, N., Cankar, K., Peterka, M., Štrancar, A., & Ravnikar, M. (2007). Detection and quantification of Tomato mosaic virus in irrigation waters. *European Journal of Plant Pathology*, 118(1), 59–71. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9112-1>
- Cambrón-Crisantos, J. M., Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, J. B., Alcasio Rangel, S., García-Ávila, C. de J., López-Buenfil, J. A., Ochoa-Martínez, D. L., Cambrón-Crisantos, J. M., Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, J. B., Alcasio Rangel, S., García-Ávila, C. de J., López-Buenfil, J. A., & Ochoa-Martínez, D. L. (2019). Primer reporte de Tomato brown rugose fruit

- virus (ToBRFV) en Michoacán, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 37(1), 185–192. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1810-5>
- Cárdenas-Soriano, E. (1999). *Diagnóstico de virus mediante inclusiones virales*. COLPOS.
- Caruso, A. G., Bertacca, S., Parrella, G., Rizzo, R., Davino, S., & Panno, S. (2022). Tomato brown rugose fruit virus: A pathogen that is changing the tomato production worldwide. *Annals of Applied Biology*, 181(3), 258–274. <https://doi.org/10.1111/aab.12788>
- Castello, J. D., Rogers, S. O., Starmer, W. T., Catranis, C. M., Ma, L., Bachand, G. D., Zhao, Y., & Smith, J. E. (1999). Detection of tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient glacial ice. *Polar Biology*, 22(3), 207–212. <https://doi.org/10.1007/s0030000050411>
- CFIA. (2017, enero 16). *National Voluntary Farm-Level Biosecurity Standard for the Greenhouse, Nursery and Floriculture Sectors* [Reference material]. <http://inspection.canada.ca/en/plant-health/invasive-species/biosecurity/national-voluntary-farm-level-biosecurity-standard>
- Chanda, B., Shamimuzzaman, M., Gilliard, A., & Ling, K.-S. (2021a). Effectiveness of disinfectants against the spread of tobamoviruses: Tomato brown rugose fruit virus and Cucumber green mottle mosaic virus. *Virology Journal*, 18, 7. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01479-8>
- Chanda, B., Shamimuzzaman, M., Gilliard, A., & Ling, K.-S. (2021b). Effectiveness of disinfectants against the spread of tobamoviruses: Tomato brown rugose fruit virus and Cucumber green mottle mosaic virus. *Virology Journal*, 18(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01479-8>
- Christensen, N., Tilsner, J., Bell, K., Hammann, P., Parton, R., Lacomme, C., & Oparka, K. (2009). The 5' Cap of Tobacco Mosaic Virus (TMV) Is Required for Virion Attachment to the Actin/Endoplasmic Reticulum Network During

Early Infection. *Traffic*, 10(5), 536–551. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.00889.x>

Christie, R. G., & Edwardson, J. R. (1977). *Light and Electron Microscopy of Plant Virus Inclusions*. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

CNRF, C. N. D. R. F. (2022). *Protocolo de Diagnóstico: Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) (Virus del fruto rugoso marrón del tomate)*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/793315/Protocolo_ToBRFV.pdf

Conti, G., Rodriguez, M. C., Venturuzzi, A. L., & Asurmendi, S. (2016). Modulation of host plant immunity by Tobamovirus proteins. *Annals of Botany*, mcw216. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw216>

Cowling, V. H. (2010). Regulation of mRNA cap methylation. *Biochemical Journal*, 425(2), 295–302. <https://doi.org/10.1042/BJ20091352>

Cuperus, J. T., Fahlgren, N., & Carrington, J. C. (2011). Evolution and Functional Diversification of *MIRNA* Genes. *The Plant Cell*, 23(2), 431–442. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.082784>

De Koning, P. P. M., Fowkes, A. R., Zisi, Z., Beris, D., Oplaat, C., McGreig, S., Skelton, A., Adams, I. P., Van Gemert, J., De Krom, C., Visser, M., Westenberg, M., Van De Vossen, B. T. L. H., Varveri, C., Roenhorst, J. W., Schenk, M., Matthijnsens, J., Fox, A., & Botermans, M. (2025). Tomato Brown Rugose Fruit Virus Nextstrain Build Version 4: Pathways of Introduction and Local Spread. *PhytoFrontiers™*, 5(1), 105–111. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-05-24-0049-A>

Decroly, E., Ferron, F., Lescar, J., & Canard, B. (2012). Conventional and unconventional mechanisms for capping viral mRNA. *Nature Reviews Microbiology*, 10(1), 51–65. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2675>

- Domiat-Saad, R., & Scheuermann, R. H. (2006). Nucleic acid testing for viral burden and viral genotyping. *Clinica Chimica Acta*, 363(1–2), 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2005.05.049>
- Dordas, C. (2009). Role of Nutrients in Controlling Plant Diseases in Sustainable Agriculture: A Review. En E. Lichtfouse, M. Navarrete, P. Debaeke, S. Véronique, & C. Alberola (Eds.), *Sustainable Agriculture* (pp. 443–460). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_28
- Drummond, A. J., & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1), 214. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>
- Eads, A., Groth-Helms, D., Davenport, B., Cha, X., Li, R., Walsh, C., & Schuetz, K. (2023). The Commercial Validation of Three Tomato Brown Rugose Fruit Virus Assays. *PhytoFrontiers™*, 3(1), 206–213. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-03-22-0033-FI>
- Ehlers, J., Nourinejhad Zarghani, S., Liedtke, S., Kroschewski, B., Büttner, C., & Bandte, M. (2023a). Analysis of the Spatial Dispersion of Tomato Brown Rugose Fruit Virus on Surfaces in a Commercial Tomato Production Site. *Horticulturae*, 9(5), 611. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9050611>
- Ehlers, J., Nourinejhad Zarghani, S., Liedtke, S., Kroschewski, B., Büttner, C., & Bandte, M. (2023b). Analysis of the Spatial Dispersion of Tomato Brown Rugose Fruit Virus on Surfaces in a Commercial Tomato Production Site. *Horticulturae*, 9(5), 611. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9050611>
- El Gamal, A. Y., Atia, M. M., El Sayed, T., Abou-Zaid, M. I., & Tohamy, M. R. (2022). Antiviral activity of chitosan nanoparticles for controlling plant-infecting viruses. *South African Journal of Science*, 118(1/2). <https://doi.org/10.17159/sajs.2022/10693>

- Elkins, C., & Van Iersel, M. W. (2020). Longer Photoperiods with the Same Daily Light Integral Increase Daily Electron Transport through Photosystem II in Lettuce. *Plants*, 9(9), 1172. <https://doi.org/10.3390/plants9091172>
- EPPO. (2022a). PM 7/146 (2) Tomato brown rugose fruit virus. *EPPO Bulletin*, 52(3), 665–692. <https://doi.org/10.1111/epp.12891>
- EPPO. (2022b). PM 7/153 (1) Mechanical inoculation of test plants. *EPPO Bulletin*, 52(3), 693–703. <https://doi.org/10.1111/epp.12901>
- EPPO. (2026, enero 29). *Tobamovirus fructirugosum* (TOBRFV)[World distribution] *EPPO Global Database*. <https://gd.eppo.int/taxon/TOBRFV/distribution>
- Ershova, N. M., Kamarova, K. A., Sheshukova, E. V., & Komarova, T. V. (2025). Cellular Partners of Tobamoviral Movement Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(1), 400. <https://doi.org/10.3390/ijms26010400>
- Esmailzadeh, F., Santosa, A. I., Çelik, A., & Koolivand, D. (2023). Revealing an Iranian Isolate of Tomato Brown Rugose Fruit Virus: Complete Genome Analysis and Mechanical Transmission. *Microorganisms*, 11(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102434>
- European Food Safety Authority (EFSA). (2022). Pest survey card on Tomato brown rugose fruit virus. *EFSA Supporting Publications*, 19(7). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2022.EN-7409>
- Fernández-Calvino, L., Osorio, S., Hernández, M. L., Hamada, I. B., Del Toro, F. J., Donaire, L., Yu, A., Bustos, R., Fernie, A. R., Martínez-Rivas, J. M., & Llave, C. (2014). Virus-Induced Alterations in Primary Metabolism Modulate Susceptibility to *Tobacco rattle virus* in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 166(4), 1821–1838. <https://doi.org/10.1104/pp.114.250340>

- Ferron, F., Decroly, E., Selisko, B., & Canard, B. (2012). The viral RNA capping machinery as a target for antiviral drugs. *Antiviral Research*, 96(1), 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.07.007>
- Fidan, H., Sarikaya, P., Yildiz, K., Topkaya, B., Erkis, G., & Calis, O. (2021). Robust molecular detection of the new Tomato brown rugose fruit virus in infected tomato and pepper plants from Turkey. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(8), 2170–2179. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63335-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63335-4)
- Fontes, E. P. B., Teixeira, R. M., & Lozano-Durán, R. (2021). Plant virus-interactions: Unraveling novel defense mechanisms under immune-suppressing pressure. *Current Opinion in Biotechnology*, 70, 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.03.007>
- Furuichi, Y. (2015). Discovery of m⁷G-cap in eukaryotic mRNAs. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 91(8), 394–409. <https://doi.org/10.2183/pjab.91.394>
- Gallie, D. R. (2002). The 5'-leader of tobacco mosaic virus promotes translation through enhanced recruitment of eIF4F. *Nucleic Acids Research*, 30(15), 3401–3411. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf457>
- García-Estrada, R. S., Diaz-Lara, A., Aguilar-Molina, V. H., & Tovar-Pedraza, J. M. (2022). Viruses of Economic Impact on Tomato Crops in Mexico: From Diagnosis to Management—A Review. *Viruses*, 14(6), 1251. <https://doi.org/10.3390/v14061251>
- García-Ordóñez, L., & Pagán, I. (2024). Vertical and horizontal transmission of plant viruses: Two extremes of a continuum? *Npj Viruses*, 2(1), 18. <https://doi.org/10.1038/s44298-024-00030-8>
- García-Romero, J. U., & Bocanegra-Flores, D. A. (2018, diciembre). *Análisis de Riesgo del ToBRFV en México*.

<http://sinavef.senasica.gob.mx/Eventos/Content/Multimedia/Analisis%20de%20Riesgo%20para%20el%20ToBRFV.pdf>

- Garcia-Ruiz, H., García-Ruiz, M. T., Gabriel-Peralta, S. M., Miravel-Gabriel, C. B., & El-Mounadi, K. (2016). Mecanismos, aplicaciones y perspectivas del silenciamiento génico de virus en plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 34(3). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1606-8>
- Ghorbani, A. (2024). Genetic analysis of tomato brown rugose fruit virus reveals evolutionary adaptation and codon usage bias patterns. *Scientific Reports*, 14(1), 21281. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72298-y>
- Gomaa, A. E., & Garcia-Ruiz, H. (2025). Genome-Wide Variation Profile of the Genus Tobamovirus. *Viruses*, 17(9), 1284. <https://doi.org/10.3390/v17091284>
- Guenoune-Gelbart, D., Elbaum, M., Sagi, G., Levy, A., & Epel, B. L. (2008). Tobacco mosaic virus (TMV) Replicase and Movement Protein Function Synergistically in Facilitating TMV Spread by Lateral Diffusion in the Plasmodesmal Desmotubule of *Nicotiana benthamiana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 21(3), 335–345. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-3-0335>
- Hak, H., Raanan, H., Schwarz, S., Sherman, Y., Dinesh-Kumar, S. P., & Spiegelman, Z. (2023). Activation of *Tm-2²* resistance is mediated by a conserved cysteine essential for tobacco mosaic virus movement. *Molecular Plant Pathology*, 24(8), 838–848. <https://doi.org/10.1111/mpp.13318>
- Hernández-Santiago, R., Vargas-Hernández, M., Zamora-Macorra, E. J., Hernández-Santiago, R., Vargas-Hernández, M., & Zamora-Macorra, E. J. (2020). Evaluation of TMV resistance inducers in tomato. *Revista*

- Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(2), 377–390.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.2072>
- Hillis, D. M., Huelsenbeck, J. P., & Swofford, D. L. (1994). Hobgoblin of phylogenetics. *Nature*, 369(6479), 363–364.
<https://doi.org/10.1038/369363a0>
- Huber, B. M., Louws, F. J., & Hernández, R. (2021). Impact of Different Daily Light Integrals and Carbon Dioxide Concentrations on the Growth, Morphology, and Production Efficiency of Tomato Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 12, 615853. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.615853>
- Huelsenbeck, J. P., Larget, B., Miller, R. E., & Ronquist, F. (2002). Potential Applications and Pitfalls of Bayesian Inference of Phylogeny. *Systematic Biology*, 51(5), 673–688. <https://doi.org/10.1080/10635150290102366>
- Huelsenbeck, J. P., Ronquist, F., Nielsen, R., & Bollback, J. P. (2001). Bayesian Inference of Phylogeny and Its Impact on Evolutionary Biology. *Science*, 294(5550), 2310–2314. <https://doi.org/10.1126/science.1065889>
- Hull, R. (2013). *Plant Virology*. <https://shop.elsevier.com/books/plant-virology/hull/978-0-12-384871-0>
- Ibañez, J. M., Zambrana, R., Carreras, P., Obregón, V., Irazoqui, J. M., Vera, P. A., Lattar, T. E., Blanco Fernández, M. D., Puebla, A. F., Amadio, A. F., Torres, C., & López Lambertini, P. M. (2025). Phylodynamic of Tomato Brown Rugose Fruit Virus and Tomato Chlorosis Virus, Two Emergent Viruses in Mixed Infections in Argentina. *Viruses*, 17(4), 533. <https://doi.org/10.3390/v17040533>
- ICTV. (2024). *Genus: Tobamovirus*. https://ictv.global/report/chapter/virgaviridae/virgaviridae/tobamovirus?utm_source=chatgpt.com

- Ishibashi, K., & Ishikawa, M. (2016). Replication of Tobamovirus RNA. *Annual Review of Phytopathology*, 54(1), 55–78. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100217>
- Ishikawa, M., & Okada, Y. (2004). Replication of tobamovirus RNA. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 80(5), 215–224. <https://doi.org/10.2183/pjab.80.215>
- ISHI-Veg. (2019). *Detection of Infectious Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in Tomato and Pepper Seed*. https://worldseed.org/wp-content/uploads/2019/09/Tomato-ToBRFV_2019.09.pdf
- Kamer, G., & Argos, P. (1984). Primary structural comparison of RNA-dependent polymerases from plant, animal and bacterial viruses. *Nucleic Acids Research*, 12(18), 7269–7282. <https://doi.org/10.1093/nar/12.18.7269>
- Kano, H. (1985). Effects of Light and Inhibitors of Photosynthesis and Respiration on the Multiplication of Tobacco Mosaic Virus in Tobacco Protoplasts. *Plant and Cell Physiology*. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077024>
- Kawamura-Nagaya, K., Ishibashi, K., Huang, Y.-P., Miyashita, S., & Ishikawa, M. (2014). Replication protein of tobacco mosaic virus cotranslationally binds the 5' untranslated region of genomic RNA to enable viral replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(16). <https://doi.org/10.1073/pnas.1321660111>
- Ke, X., Yoshida, H., Hikosaka, S., & Goto, E. (2023). Photosynthetic photon flux density affects fruit biomass radiation-use efficiency of dwarf tomatoes under LED light at the reproductive growth stage. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1076423. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1076423>
- Király, L., Hafez, Y. M., Fodor, J., & Király, Z. (2008). Suppression of tobacco mosaic virus-induced hypersensitive-type necrotization in tobacco at high temperature is associated with downregulation of NADPH oxidase and

- superoxide and stimulation of dehydroascorbate reductase. *Journal of General Virology*, 89(3), 799–808. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83328-0>
- Klug, A. (1999). The tobacco mosaic virus particle: Structure and assembly. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 354(1383), 531–535. <https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0404>
- Kubota, K., Takeyama, S., Ishibashi, K., Matsushita, Y., Tomitaka, Y., Matsuyama, M., Shinosaka, H., & Ohsaki, K. (2023). Host range and pathogenicity of tomato brown rugose fruit virus. *Japanese Journal of Phytopathology*, 89(4), 225–234. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.89.225>
- Levitzky, N., Smith, E., Lachman, O., Luria, N., Mizrahi, Y., Bakelman, H., Sela, N., Laskar, O., Milrot, E., & Dombrovsky, A. (2019). The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of Tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes. *PLOS ONE*, 14(1), e0210871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210871>
- Lewandowski, D. J., & Dawson, W. O. (2000). Functions of the 126- and 183-kDa Proteins of Tobacco Mosaic Virus. *Virology*, 271(1), 90–98. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0313>
- Ling, K.-S., Gilliard, A. C., & Zia, B. (2022). Disinfectants Useful to Manage the Emerging Tomato Brown Rugose Fruit Virus in Greenhouse Tomato Production. *Horticulturae*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121193>
- Ling, K.-S., Tian, T., Gurung, S., Salati, R., & Gilliard, A. (2019). First Report of Tomato Brown Rugose Fruit Virus Infecting Greenhouse Tomato in the United States. *Plant Disease*, 103(6), 1439. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-1959-PDN>

- Liu, C., & Nelson, R. S. (2013). The cell biology of Tobacco mosaic virus replication and movement. *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00012>
- López-Gresa, M. P., Lisón, P., Kim, H. K., Choi, Y. H., Verpoorte, R., Rodrigo, I., Conejero, V., & Bellés, J. M. (2012). Metabolic fingerprinting of Tomato Mosaic Virus infected *Solanum lycopersicum*. *Journal of Plant Physiology*, 169(16), 1586–1596. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.05.021>
- Luigi, M., Manglli, A., Tiberini, A., Bertin, S., Ferretti, L., Taglienti, A., Faggioli, F., & Tomassoli, L. (2022). Inter-Laboratory Comparison of RT-PCR-Based Methods for the Detection of Tomato Brown Rugose Fruit Virus on Tomato. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(2), 207. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020207>
- Luria, N., Smith, E., Reingold, V., Bekelman, I., Lapidot, M., Levin, I., Elad, N., Tam, Y., Sela, N., Abu-Ras, A., Ezra, N., Haberman, A., Yitzhak, L., Lachman, O., & Dombrovsky, A. (2017). A New Israeli Tobamovirus Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-22 Resistance Genes. *PLOS ONE*, 12(1), e0170429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170429>
- Magaña-Alvarez, A., Perez-Brito, D., Vargas, B., Ramírez-Pool, J., Nuñez Muñoz, L., Salgado-Ortiz, H., Almaráz, R., Ruiz-Medrano, R., & Xoconostle-Cázares, B. (2021). Detection of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in solanaceous plants in Mexico. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00496-1>
- Manfre, A., Glenn, M., Nuñez, A., Moreau, R. A., & Dardick, C. (2011). Light Quantity and Photosystem Function Mediate Host Susceptibility to *Turnip mosaic virus* Via a Salicylic Acid–Independent Mechanism. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 24(3), 315–327. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-10-0191>

- Marone, M., Mozzetti, S., De Ritis, D., Pierelli, L., & Scambia, G. (2001). Semiquantitative RT-PCR analysis to assess the expression levels of multiple transcripts from the same sample. *Biological Procedures Online*, 3, 19–25. <https://doi.org/10.1251/bpo20>
- Mazaika, E., & Homsy, J. (2014). Digital Droplet PCR: CNV Analysis and Other Applications. *Current Protocols in Human Genetics*, 82(1). <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0724s82>
- McCree, K. J. (1971). The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants. *Agricultural Meteorology*, 9, 191–216. [https://doi.org/10.1016/0002-1571\(71\)90022-7](https://doi.org/10.1016/0002-1571(71)90022-7)
- Mehle, N., Bačnik, K., Bajde, I., Brodarič, J., Fox, A., Gutiérrez-Aguirre, I., Kitek, M., Kutnjak, D., Loh, Y. L., Maksimović Carvalho Ferreira, O., Ravnikar, M., Vogel, E., Vos, C., & Vučurović, A. (2023). Tomato brown rugose fruit virus in aqueous environments – survival and significance of water-mediated transmission. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1187920. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1187920>
- Melcher, U., Lewandowski, D. J., & Dawson, W. O. (2021). Tobamoviruses (Virgaviridae). En *Encyclopedia of Virology* (pp. 734–742). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.21529-X>
- Menzel, W., & Winter, S. (2021a). Identification of novel and known tobamoviruses in tomato and other solanaceous crops using a new pair of generic primers and development of a specific RT-qPCR for ToBRFV. *Acta Horticulturae*, (1316), 143–148. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1316.20>
- Menzel, W., & Winter, S. (2021b). Identification of novel and known tobamoviruses in tomato and other solanaceous crops using a new pair of generic primers and development of a specific RT-qPCR for ToBRFV. *Acta Horticulturae*, (1316), 143–148. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1316.20>

- Molad, O., Smith, E., Luria, N., Bakelman, E., Lachman, O., Reches, M., & Dombrovsky, A. (2024). *A study on tomato brown rugose fruit virus longevity in soil and virion susceptibility to various pH treatments contributes to optimization of a soil disinfection protocol*. *Plant Biology*. <https://doi.org/10.1101/2024.01.29.577727>
- Monteith, J. L., & Unsworth, M. H. (2013). *Principles of environmental physics: Plants, animals, and the atmosphere* (4th ed). Elsevier/Academic Press.
- Muroga, Y., Sano, Y., Tagawa, H., & Shimizu, S. (2007). Studies on the Conformation of a Polyelectrolyte in Solution: Local Conformation of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus RNA Compared with Tobacco Mosaic Virus RNA. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(29), 8619–8625. <https://doi.org/10.1021/jp068944j>
- Murray, R. R., Emblow, M. S. M., Hetherington, A. M., & Foster, G. D. (2016). Plant virus infections control stomatal development. *Scientific Reports*, 6(1), 34507. <https://doi.org/10.1038/srep34507>
- NAPPO. (2023). *Pilot for the Harmonization of Diagnostic Protocols for Seed Pests Focused on Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)*. https://www.nappo.org/application/files/8016/8728/3348/20230510_Final_Report-e.pdf
- Nash, D., Ellmen, I., Knapp, J. J., Menon, R., Overton, A. K., Cheng, J., Lynch, M. D. J., Nissimov, J. I., & Charles, T. C. (2023). *A Novel Tiled-Amplicon Sequencing Assay Targeting the Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) Genome Reveals Widespread Distribution in Municipal Wastewater Treatment Systems in the Province of Ontario, Canada* (p. 2023.11.02.565359). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2023.11.02.565359>
- Noble, R., & Roberts, S. J. (2004). Eradication of plant pathogens and nematodes during composting: A review. *Plant Pathology*, 53(5), 548–568. <https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.01059.x>

- Nourinejhad-Zarghani, S., Monavari, M., Nourinejhad Zarghani, A., Nouri, S., Ehlers, J., Hamacher, J., Bandte, M., & Büttner, C. (2024). Quantifying Plant Viruses: Evolution from Bioassay to Infectivity Dilution Curves along the Model of Tobamoviruses. *Viruses*, 16(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/v16030440>
- Oliver, R. (2024). *Agrios' Plant Pathology* (6th Edition). <https://shop.elsevier.com/books/agrios-plant-pathology/oliver/978-0-12-822429-8>
- Pagán, I. (2018). The diversity, evolution and epidemiology of plant viruses: A phylogenetic view. *Infection, Genetics and Evolution*, 65, 187–199. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.07.033>
- Panno, S., Ruiz-Ruiz, S., Caruso, A. G., Alfaro-Fernandez, A., Ambrosio, M. I. F. S., & Davino, S. (2019). Real-time reverse transcription polymerase chain reaction development for rapid detection of Tomato brown rugose fruit virus and comparison with other techniques. *PeerJ*, 7, e7928. <https://doi.org/10.7717/peerj.7928>
- Pelham, J. (1966). Resistance in tomato to tobacco mosaic virus. *Euphytica*, 15(2), 258–267. <https://doi.org/10.1007/BF00022331>
- Ramos-Villanueva, C. D., Carrillo-Benitez, G., Zamora-Macorra, E. J., Santiago-Elena, E., Ramírez-Alarcón, S., Jimenez-Vidals, J., & Ávila-López, R. (2023). Use of endophytic microorganisms for the management of Tomato brown rugose fruit virus in tomato crop (*Solanum lycopersicum*). *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 41(4). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2023-1>
- Rivera-Márquez, K., Núñez-Muñoz, L. A., Calderón-Pérez, B., De La Torre-Almaraz, R., Vargas-Hernández, B. Y., Ruiz-Medrano, R., & Xoconostle-Cázares, B. (2022). Bioinformatic-based approach for mutagenesis of plant immune Tm-22 receptor to confer resistance against tomato brown rugose

fruit virus (ToBRFV). *Frontiers in Plant Science*, 13.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.984846>

Rodríguez-Díaz, C. I., Zamora-Macorra, E. J., Ochoa-Martínez, D. L., González-Garza, R., Rodríguez-Díaz, C. I., Zamora-Macorra, E. J., Ochoa-Martínez, D. L., & González-Garza, R. (2022). Disinfectants effectiveness in Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) transmission in tobacco plants. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 40(2), 240–253.
<https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2111-2>

Rodríguez-Mendoza, J., García-Ávila, C. D. J., López-Buenfil, J. A., Araujo-Ruiz, K., Quezada-Salinas, A., Cambrón-Crisantos, J. M., & Ochoa-Martínez, D. L. (2019). Identificación de Tomato brown rugose fruit virus por RT-PCR de una región codificante de la replicasa (RdRP). *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 37(2).
<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1902-6>

Rosario, K., Symonds, E. M., Sinigalliano, C., Stewart, J., & Breitbart, M. (2009). *Pepper Mild Mottle Virus* as an Indicator of Fecal Pollution. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(22), 7261–7267.
<https://doi.org/10.1128/AEM.00410-09>

Runia, W. T., & Boonstra, S. (2004). UV-Oxidation Technology for Disinfection of Recirculation Water in Protected Cultivation. *Acta Horticulturae*, (644), 549–555. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.644.73>

Runia, W. Th. (1994). ELIMINATION OF ROOT-INFECTING PATHOGENS IN RECIRCULATION WATER FROM CLOSED CULTIVATION SYSTEMS BY ULTRA-VIOLET RADIATION. *Acta Horticulturae*, (361), 361–371.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.361.36>

Runia, W. Th. (1995). A REVIEW OF POSSIBILITIES FOR DISINFECTION OF RECIRCULATION WATER FROM SOILLESS CULTURES. *Acta*

Horticulturae, (382), 221–229.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.382.25>

Salem, N., Abumuslem, M., Turina, M., Samarah, N., Sulaiman, A., Abu-Irmaileh, B., & Ata, Y. (2022). New Weed Hosts for Tomato Brown Rugose Fruit Virus in Wild Mediterranean Vegetation. *Plants*, 11(17), Article 17. <https://doi.org/10.3390/plants11172287>

Salem, N. M., Mansour, A., Ciuffo, M., Falk, B. W., & Turina, M. (2016). A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. *Archives of Virology*, 161(2), 503–506. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2677-7>

Salem, N. M., Sulaiman, A., Samarah, N., Turina, M., & Vallino, M. (2022). Localization and Mechanical Transmission of Tomato Brown Rugose Fruit Virus in Tomato Seeds. *Plant Disease*, 106(1), 275–281. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-20-2413-RE>

Sánchez-Sánchez, M., Carrillo-Tripp, J., Aispuro-Hernández, E., Quintana-Obregón, E. A., & Martínez-Téllez, M. Á. (2023). Understanding tobamovirus-plant interactions: Implications for breeding resistance to tomato brown rugose fruit virus. *Journal of Plant Pathology: An International Journal of the Italian Phytopathological Society*, 105(1), 83–94. <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01287-9>

Sarkes, A., Fu, H., Feindel, D., Harding, M., & Feng, J. (2020). Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV). *PLOS ONE*, 15(6), e0230403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230403>

Sastry, K. S. (2013). *Seed-borne plant virus diseases*. Springer India. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-0813-6>

- SENASICA. (s/f). *Módulo de consulta de requisitos fitosanitarios para la importación de mercancía de origen vegetal*. Recuperado el 4 de marzo de 2026, de <https://sistemasssl.senasica.gob.mx/mcrfi/>
- SENASICA. (2019, enero). *Protocolo de Diagnóstico: Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) (Virus del fruto marrón rugoso del tomate)*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/723702/25._Protocolo_ToBRFV_V.2_PUB.pdf
- Sharma, J., Dua, V. K., Sharma, S., Choudhary, A. K., Kumar, P., & Sharma, A. (2022). Role of Plant Nutrition in Disease Development and Management. En S. K. Chakrabarti, S. Sharma, & M. A. Shah (Eds.), *Sustainable Management of Potato Pests and Diseases* (pp. 83–110). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-16-7695-6_4
- Simmonds, P., Adams, M. J., Benkő, M., Breitbart, M., Brister, J. R., Carstens, E. B., Davison, A. J., Delwart, E., Gorbalenya, A. E., Harrach, B., Hull, R., King, A. M. Q., Koonin, E. V., Krupovic, M., Kuhn, J. H., Lefkowitz, E. J., Nibert, M. L., Orton, R., Roossinck, M. J., ... Zerbini, F. M. (2017). Virus taxonomy in the age of metagenomics. *Nature Reviews Microbiology*, 15(3), 161–168. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.177>
- Skelton, A., Frew, L., Ward, R., Hodgson, R., Forde, S., McDonough, S., Webster, G., Chisnall, K., Mynett, M., Buxton-Kirk, A., Fowkes, A. R., Weekes, R., & Fox, A. (2023). Tomato Brown Rugose Fruit Virus: Survival and Disinfection Efficacy on Common Glasshouse Surfaces. *Viruses*, 15(10), 2076. <https://doi.org/10.3390/v15102076>
- Skelton, A., Gemert, J. van, Fowkes, A., Frew, L., Alraiss, K., Hodgson, R., Cressey, J., Barnhoorn, R., Macarthur, R., Stijger, I., Verbeek, M., van der Vlugt, R., Koenraad, H., Roenhorst, A., Botermans, M., & Fox, A. (2023). Detection of tomato brown rugose fruit virus is influenced by infection at

- different growth stages and sampling from different plant parts. *Plant Pathology*, 72(8), 1491–1504. <https://doi.org/10.1111/ppa.13771>
- Smith, E., & Dombrovsky, A. (2020). Aspects in *Tobamovirus* Management in Intensive Agriculture. En S. Topolovec-Pintarić (Ed.), *Plant Diseases—Current Threats and Management Trends*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.87101>
- Spiegelman, Z., & Dinesh-Kumar, S. P. (2023). Breaking Boundaries: The Perpetual Interplay Between Tobamoviruses and Plant Immunity. *Annual Review of Virology*, 10(1), 455–476. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-111821-122847>
- Swofford, D. L., & Sullivan, J. (2009). Phylogeny inference based on parsimony and other methods using PAUP. En A.-M. Vandamme, M. Salemi, & P. Lemey (Eds.), *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing* (2a ed., pp. 267–312). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511819049.010>
- Sztuba-Solińska, J., Urbanowicz, A., Figlerowicz, M., & Bujarski, J. J. (2011). RNA-RNA Recombination in Plant Virus Replication and Evolution. *Annual Review of Phytopathology*, 49(1), 415–443. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095351>
- Tianyuan, C., Dan Liu, Niu, X., Wang, J., Qian, L., Han, L., Liu, N., Zhao, J., Hong, Y., & Liu, Y. (2017). Antiviral Resistance Protein Tm-2² Functions on the Plasma Membrane. *Plant Physiology*, 173(4), 2399–2410. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01512>
- Topcu, Y., Yildiz, K., Kayikci, H. C., Aydin, S., Feng, Q., & Sapkota, M. (2025). Deciphering resistance to Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) using Genome-Wide Association Studies. *Scientia Horticulturae*, 341, 113968. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.113968>

- Topisirovic, I., Svitkin, Y. V., Sonenberg, N., & Shatkin, A. J. (2011). Cap and cap-binding proteins in the control of gene expression. *Wiley Interdisciplinary Reviews. RNA*, 2(2), 277–298. <https://doi.org/10.1002/wrna.52>
- Turina, M., & Salem, N. (2020). Tomato brown rugose fruit virus (Tomato brown rugose fruit virus). *CABI Compendium*, CABI Compendium, 88757522. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.88757522>
- USDA. (2020). *APHIS amends Federal Order for U.S. Imports of tomato (Solanum lycopersicum) and pepper (Capsicum spp.) hosts of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)* (DA-2020-12). <https://www.aphis.usda.gov/sites/default/files/DA-2020-12.pdf>
- Van Damme, M., Zois, R., Verbeek, M., Bai, Y., & Wolters, A.-M. A. (2023). Directions from Nature: How to Halt the Tomato Brown Rugose Fruit Virus. *Agronomy*, 13(5), 1300. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051300>
- van de Vossenberg, B. T. L. H., Visser, M., Bruinsma, M., Koenraadt, H. M. S., Westenberg, M., & Botermans, M. (2020). Real-time tracking of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) outbreaks in the Netherlands using Nextstrain. *PLoS ONE*, 15(10), e0234671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234671>
- Vásquez Gutiérrez, U., Delgado-Ortiz, J. C., Frías-Treviño, G. A., Aguirre-Uribe, L. A., & Flores-Olivas, A. (2025). Tobamovirus fructirugosum an emerging disease: Review and current situation in Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 43(1). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2401-7>
- Venbrux, M., Crauwels, S., & Rediers, H. (2023). Current and emerging trends in techniques for plant pathogen detection. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1120968. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1120968>

- ViralZone. (2023). *RNA dependent RNA polymerase*.
<https://viralzone.expasy.org/10557>
- Vogler, H., Akbergenov, R., Shivaprasad, P. V., Dang, V., Fasler, M., Kwon, M.-O., Zhanybekova, S., Hohn, T., & Heinlein, M. (2007). Modification of Small RNAs Associated with Suppression of RNA Silencing by Tobamovirus Replicase Protein. *Journal of Virology*, 81(19), 10379–10388.
<https://doi.org/10.1128/JVI.00727-07>
- Wang, D., Chen, M., Peng, J., Zheng, H., Lu, Y., Wu, G., Wu, J., Li, J., Chen, J., Yan, F., & Rao, S. (2024). Transcriptome Analysis of Tomato Leaves Reveals Candidate Genes Responsive to Tomato Brown Rugose Fruit Virus Infection. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7), 4012.
<https://doi.org/10.3390/ijms25074012>
- Weber, H., & Pfitzner, A. J. P. (1998). *Tm-2²* Resistance in Tomato Requires Recognition of the Carboxy Terminus of the Movement Protein of Tomato Mosaic Virus. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 11(6), 498–503.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.6.498>
- Weiss, D., Sede, A. R., Levanova, A. A., Leibman-Markus, M., Gupta, R., Mishra, R., Hak, H., Bar, M., Poranen, M. M., Heinlein, M., & Spiegelman, Z. (2026). Control of tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in tomato plants using *in vivo* synthesized dsRNA. *Journal of Experimental Botany*, 77(3), 865–879. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraf293>
- Wylie, S. (2023). Tobamoviruses: Special Issue Editorial. *Viruses*, 15(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/v15112174>
- Xu, P., Chen, F., Mannas, J. P., Feldman, T., Sumner, L. W., & Roossinck, M. J. (2008). Virus infection improves drought tolerance. *New Phytologist*, 180(4), 911–921. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02627.x>

- Xu, R., Yang, Y., Qin, R., Li, H., Qiu, C., Li, L., Wei, P., & Yang, J. (2016). Rapid improvement of grain weight via highly efficient CRISPR/Cas9-mediated multiplex genome editing in rice. *Journal of Genetics and Genomics = Yi Chuan Xue Bao*, 43(8), 529–532. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2016.07.003>
- Yan, Z., Zhao, M., Ma, H., Liu, L., Yang, G., Geng, C., Tian, Y., & Li, X. (2021). Biological and molecular characterization of tomato brown rugose fruit virus and development of quadruplex RT-PCR detection. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(7), 1871–1879. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63275-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63275-0)
- Yan, Z.-Y., Ma, H.-Y., Han, S.-L., Geng, C., Tian, Y.-P., & Li, X.-D. (2019). First Report of Tomato brown rugose fruit virus Infecting Tomato in China. *Plant Disease*, 103(11), 2973–2973. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-1045-PDN>
- Zamboni, A., Pierantoni, L., & De Franceschi, P. (2008). Total RNA extraction from strawberry tree (*Arbutus unedo*) and several other woody-plants. *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 1(4), 122–125. <https://doi.org/10.3832/ifor0465-0010122>
- Zamora, E. J., Ochoa-Martínez Daniel Leobardo, Chavarín-Camacho Claudia Yaritza, Rosemarie W. Hammond, & Aviña-Padilla Katia. (2025). *Host-Specific Adaptations and Global Transmission Potential of a Mexican ToBRFV Isolate: Insights from Genomic Analysis* (p. 2025.01.08.631997). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2025.01.08.631997>
- Zamora-Macorra, E. J., Merino-Domínguez, C. L., Ramos-Villanueva, C., Mendoza-Espinoza, I. M., Cadenas-Castrejón, E., & Aviña-Padilla, K. (2025). Analysis of Disinfectant Efficacy Against Tomato Brown Rugose Fruit Virus: Surface and Method Effects in Greenhouse Production. *Agronomy*, 16(1). <https://doi.org/10.3390/agronomy16010015>

- Zhang, S., Griffiths, J. S., Marchand, G., Bernards, M. A., & Wang, A. (2022a). Tomato brown rugose fruit virus: An emerging and rapidly spreading plant RNA virus that threatens tomato production worldwide. *Molecular Plant Pathology*, 23(9), 1262–1277. <https://doi.org/10.1111/mpp.13229>
- Zhang, S., Griffiths, J. S., Marchand, G., Bernards, M. A., & Wang, A. (2022b). *Tomato brown rugose fruit virus*: An emerging and rapidly spreading plant RNA virus that threatens tomato production worldwide. *Molecular Plant Pathology*, 23(9), 1262–1277. <https://doi.org/10.1111/mpp.13229>
- Zheng, X., Li, Y., & Liu, Y. (2024). Plant Immunity against Tobamoviruses. *Viruses*, 16(4), 530. <https://doi.org/10.3390/v16040530>
- Zhi-Yong Yan, Ma, H.-Y., Wang, L., Tettey, C., Zhao, M.-S., Geng, C., Tian, Y.-P., & Li, X.-D. (2021). Identification of genetic determinants of tomato brown rugose fruit virus that enable infection of plants harbouring the Tm-22 resistance gene. *Molecular Plant Pathology*, 22(11), 1347–1357. <https://doi.org/10.1111/mpp.13115>
- Zhou, J., Gilliard, A., & Ling, K.-S. (2024). Tomato Brown Rugose Fruit Virus Is Transmissible through a Greenhouse Hydroponic System but May Be Inactivated by Cold Plasma Ozone Treatment. *Horticulturae*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/horticulturae10040416>
- Zinger, A., Doron-Faigenboim, A., Gelbart, D., Levin, I., & Lapidot, M. (2025). Contribution of the tobamovirus resistance gene Tm-1 to control of tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) resistance in tomato. *PLOS Genetics*, 21(5), e1011725. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1011725>
- Zipper, H. (2004). Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. *Nucleic Acids Research*, 32(12), e103–e103. <https://doi.org/10.1093/nar/gnh101>

- Zisi, Z., Ghijssels, L., Vogel, E., Vos, C., & Matthijssens, J. (2024). Single amino acid change in tomato brown rugose fruit virus breaks virus-specific resistance in new resistant tomato cultivar. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1382862. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1382862>
- Zisi, Z., Ruiz Movilla, I., Basler, N., Close, L., Ghijssels, L., Van der Hoeven, R., Papadaki, M. I., Rabinowitsch, E., Van Reeth, F., Swinnen, J., Vogel, E., Vos, C., Hanssen, I., & Matthijssens, J. (2025). Metagenomics Study of the Commercial Tomato Virome Focused on Virus Species of Epidemiological Interest. *Viruses*, 17(10), 1334. <https://doi.org/10.3390/v17101334>

CAPÍTULO 3. PRESENCIA E IDENTIDAD DE *Tobamovirus fructirugosum* EN REGIONES PRODUCTORAS DE SOLÁNACEAS EN MÉXICO

3.1 RESUMEN

Tobamovirus fructirugosum se detectó en México en 2018 en el estado de Michoacán en invernaderos productores de tomate (*S. lycopersicum*); a partir de esta primera detección y confirmación por SENASICA, su presencia se confirmó en todas las regiones productoras de tomate y pimiento del país. Con el fin de obtener fuentes de infección representativas de este virus para estudios posteriores, se realizaron muestreos dirigidos a regiones que contemplaron las principales regiones productoras. Las muestras sintomáticas colectadas se procesaron para confirmar su infección mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos específicos dirigidos a un fragmento del ORF que codifica para la RdRp. Los amplicones obtenidos se enviaron a secuenciar y a partir de los datos recibidos se generaron secuencias consenso que se compararon en la base de datos GenBank mediante BLASTn para corroborar la identidad con *T. fructirugosum*. En total se obtuvieron once fuentes de infección provenientes de nueve entidades federativas, todas con coberturas del 100 %, error 0.0 y 100% de ellas con identidad del 100% al virus. Las fuentes de infección obtenidas se mantuvieron en *Nicotiana occidentalis*; las cuales no mostraron diferencias sintomáticas cuando se inocularon en este hospedante. Estos resultados corroboraron la presencia y distribución del virus en el país, además permitieron obtener fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* para purificarlos y caracterizarlos a nivel molecular y biológico bajo condiciones controladas.

Palabras clave: Fuente de infección, *Tobamovirus fructirugosum*, *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annuum*, *Physalis philadelphica*, diagnóstico viral y RT-PCR.

3.2 INTRODUCCIÓN

El *T. fructirugosum* se identificó por primera vez en Jordania en 2015 (N. M. Salem et al., 2016), desde entonces ha causado gran preocupación en la producción de las principales solanáceas (tomate y pimiento) debido al impacto que tiene sobre éstas. Los síntomas ocasionados por el *T. fructirugosum* en tomate y pimiento incluyen mosaicos, deformaciones, maduración irregular y manchas rugosas de color marrón en los frutos (Chanda, Gilliard, et al., 2021; Luria et al., 2017). Estos síntomas afectan directamente el rendimiento y la calidad comercial del producto, ya que alteran su apariencia y textura, haciéndolo menos atractivo para los consumidores; además, el virus puede llegar a afectar la totalidad de las plantas y producir pérdidas del 70% de la cosecha debido a los síntomas mencionados anteriormente (Dey, 2019). Es por esto, por lo que la detección oportuna y precisa es fundamental para implementar medidas de manejo fitosanitario eficaces. Para ello, se dispone de una variedad de técnicas diagnósticas que van desde métodos tradicionales hasta herramientas moleculares, cada una con características particulares en cuanto a sensibilidad, especificidad, tiempo de respuesta y requerimientos técnicos (Bernabé-Orts et al., 2021; Vásquez Gutiérrez et al., 2025). Uno de los métodos más utilizados son las pruebas serológicas, como ELISA, ampliamente utilizadas en laboratorios de diagnóstico por su simplicidad, bajo costo y capacidad de procesar un gran número de muestras en poco tiempo. Estas pruebas detectan la presencia de proteínas virales mediante anticuerpos específicos, pero pueden presentar reacciones cruzadas entre especies estrechamente relacionadas, lo que compromete su especificidad, especialmente en el caso de *T. fructirugosum* que presenta reacción cruzada con *Tobamovirus paprikae*, *Tobamovirus maculatusellati*, *Tobamovirus tomatotessellati* y *Tobamovirus tabaci*. A pesar de esta limitación, el ELISA sigue siendo útil como herramienta de tamizaje inicial en programas de monitoreo fitosanitario (Agdia, 2025; Vásquez Gutiérrez et al., 2025). Por otro lado, la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en punto final ha demostrado ser una de las técnicas más sensibles y específicas para la detección de tobamovirus. Esta técnica permite amplificar regiones

específicas del genoma viral a partir del RNA extraído de tejidos infectados, lo que facilita no solo la confirmación de la presencia del virus, sino también su identificación mediante secuenciación de los productos amplificados (Menzel & Winter, 2021a). La RT-PCR ha sido particularmente útil en la detección de *T. fructirugosum*, dado que se pueden diseñar oligonucleótidos específicos para regiones conservadas del genoma viral, como los genes que codifican para la replicasa, la cápside o la proteína de movimiento (Rodríguez-Mendoza et al., 2019; Vásquez Gutiérrez et al., 2025). Dentro de las fortalezas de la RT-PCR en punto final es su sensibilidad, lo que le permite detectar concentraciones bajas de RNA viral, incluso en fases tempranas de la infección, cuando los síntomas aún no son evidentes (Boonham et al., 2014). Además, al utilizar oligonucleótidos específicos diseñados para regiones conservadas o únicas del genoma del virus, esta técnica ofrece una elevada especificidad, permitiendo diferenciar entre especies dentro del grupo de los tobamovirus (Alkowni et al., 2019; Peng et al., 2015; Rodríguez-Mendoza et al., 2019). Otro beneficio importante es su accesibilidad: en comparación con métodos más avanzados, como la RT-qPCR, la RT-PCR convencional requiere equipamiento menos costoso y reactivos relativamente económicos, lo que la convierte en una opción viable para laboratorios con recursos limitados (Mackay, 2002). No obstante, la técnica también presenta ciertas limitaciones que deben ser consideradas. Una de las principales desventajas es que la RT-PCR en punto final no permite la cuantificación de la carga viral, limitándose principalmente a proporcionar un resultado cualitativo (presencia o ausencia del patógeno) (Bustin, 2002; Mackay, 2002). A pesar de esto, la RT-PCR en punto final continúa siendo una herramienta valiosa en la detección de tobamovirus, particularmente en contextos donde se requiere una confirmación específica del agente causal y no se dispone de recursos para métodos más avanzados como RT-qPCR o ddPCR. Otra de las limitantes es que es fundamental incluir un control endógeno lo que representa una reacción adicional de PCR, normalmente un gen constitutivo de la planta (por ejemplo, actina, EF-1 α o 18S RNAr); este control permite verificar la calidad del RNA extraído y la eficiencia de la retrotranscripción, asegurando que los

resultados negativos para el virus no se deban a fallas en la extracción, degradación del RNA o inhibición de la reacción por contaminantes, sino a una verdadera ausencia del patógeno en la muestra (Zamboni et al., 2008).

Dentro de las regiones más utilizadas para el diagnóstico mediante RT-PCR se encuentra la RdRp dado que por sus funciones, es una región altamente conservada (W. Zhang et al., 2021). Esta característica lo convierte en un marcador útil para el diseño de oligonucleótidos que permitan la detección e identificación específica de *T. fructirugosum* (Rodríguez-Mendoza et al., 2019).

En este estudio, se utilizaron oligonucleótidos específicos para amplificar parte del ORF que codifica para la RdRp mediante RT-PCR y posterior secuenciación para corroborar la identidad de las fuentes de infección mexicanas candidatas a ser conservadas y posteriormente analizadas en ensayos próximos.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 Recolección de material vegetal sintomático

Durante los meses de febrero a marzo de 2024, se llevó a cabo la recolección de material vegetal sintomático en las principales zonas productoras de tomate (*S. lycopersicum*) del país. Las muestras fueron tomadas de plantas que presentaban sintomatología compatible con infecciones causadas por virus del género *Tobamovirus*, tales como mosaico clorótico, deformaciones foliares, necrosis localizada, maduración irregular del fruto.

Para la toma de muestras, se utilizaron navajas de afeitar nuevas y guantes de nitrilo que se cambiaron en cada recolección. Las muestras consistieron en hojas jóvenes, pecíolos y frutos, los cuales fueron colocados en bolsas de polietileno con cierre hermético, rotuladas e identificadas con datos de la localidad y fecha. Las muestras fueron almacenadas y transportadas en una hielera con paquetes de gel refrigerante a 4 °C hasta su llegada al laboratorio, donde fueron conservadas en refrigeración hasta su procesamiento.

3.3.2 Extracción de RNA total

La extracción de RNA total se realizó a partir de 100 mg de tejido foliar sintomático, previamente congelado con nitrógeno líquido y macerado en mortero con pistilo esterilizados hasta obtener un polvo fino. La muestra macerada se transfirió a tubos de microcentrífuga de 2 mL esterilizados. A cada muestra se le adicionó 1 mL de TRIzol™ Reagent, siguiendo el protocolo propuesto por Thermo Fisher Scientific para este reactivo (Invitrogen, Cat. No. 15596026). La mezcla se homogeneizó mediante vortex y se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos para permitir la disociación de complejos nucleoprotéicos. Posteriormente, se añadieron 0.2 mL de cloroformo por cada mL de TRIzol; la muestra se agitó vigorosamente a mano durante 15 segundos y se dejó reposar 5 minutos a temperatura ambiente antes de centrifugar a $12,000 \times g$ durante 15 minutos a 4 °C. Tras la centrifugación, se recuperó la fase acuosa superior en tubos de microcentrífuga de 1.5 mL y se mezcló con un volumen igual de isopropanol puro, incubándose a temperatura ambiente durante 10 minutos para precipitar el RNA. El precipitado se recolectó mediante centrifugación a $12,000 \times g$ durante 10 minutos a 4 °C, seguido de un lavado con 1 mL de etanol al 75 % y una centrifugación a $7,500 \times g$ durante 5 minutos a 4 °C; este último paso se repitió una vez más. Finalmente, el pellet de RNA se resuspendió en 50 µL de agua libre de nucleasas y las muestras se almacenaron a -20 °C.

3.3.3 Cualificación del RNA total extraído

La calidad y cantidad del RNA fueron evaluadas mediante espectrofotometría con un NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific, Cat. No. ND-2000). La integridad fue determinada mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1 % teñido con bromuro de etidio a una concentración final de 0.5 µg/mL. El gel se visualizó y documentó bajo luz ultravioleta en un fotodocumentador UVP 310 Gel Doc System (Thermo Fisher Scientific Inc. cat. No. UVP97013804).

3.3.4 Síntesis de cDNA y amplificación por RT-PCR

La síntesis de DNA complementario (cDNA) se realizó a partir de 40 ng.µL⁻¹ de RNA total utilizando el kit iScript™ Reverse Transcription Supermix for RT-qPCR (Bio-Rad, No. cat. 1708841), en una reacción de 10 µL incubada a 25 °C por 5 minutos, 46 °C por 20 minutos y 95 °C por 1 minuto, según las especificaciones del fabricante.

Para la detección mediante PCR en punto final se emplearon dos pares de iniciadores; un juego para control endógeno y otro para la detección. Como control endógeno, se utilizaron oligonucleótidos que amplifican una región del gen que codifica para el RNAr 18s de la planta hospedante (Zamboni et al., 2008). Para la detección específica de *T. fructirugosum*, se emplearon oligonucleótidos específicos que flanquean una región de 475 bases correspondientes a la RdRp (Rodríguez-Mendoza et al., 2019). Las secuencias de ambos oligonucleótidos se presentan en el **Cuadro 6**.

Cuadro 6. Oligonucleótidos utilizados en el ensayo de RT-PCR para la detección de control endógeno 18s y *T. fructirugosum*.

Oligonucleótidos	Secuencia (5' - 3')	Tamaño (pb)	Ensayo
18s Fw	ACGGATCGCACGGCCTTCGTG	300	Control endógeno
18s Rv	ACCAGACTTGCCCTCCAATGG		
ToBRFV-FMX	AACCAGAGTCTTCCTATACTCGGAA	475	RdRp
ToBRFV-RMX	CTCWCCATCTCTTAATAATCTCCT		

La amplificación por PCR se realizó en una reacción de 20 µL que contenía 10 µL de iQ™ Supermix 2X (Bio-Rad, cat. no. 1708865), 1 µL de DNAC, 1 µL de cada oligonucleótido específico [10 µM] y 7 µL de agua libre de nucleasas.

Las condiciones térmicas para la amplificación se llevaron a cabo en un Dual 48/48 Fast Reaction Module (Bio-Rad, cat. no. 1840148) montado sobre un C1000 Thermal Cycler Chassis (Bio-Rad, Cat. No. 1841000). Para la detección del gen endógeno, el programa térmico consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 90 segundos, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C

por 40 segundos, alineamiento a 55 °C por 40 segundos y extensión a 72 °C por 1 minuto, con una extensión final a 72 °C durante 3 minutos.

Para el ensayo específico detección de *T. fructirugosum*, las condiciones de amplificación incluyeron una desnaturalización inicial a 98 °C por 90 segundos, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 98 °C por 10 segundos, alineamiento a 55 °C por 20 segundos y extensión a 72 °C por 40 segundos, con una extensión final a 72 °C durante 5 minutos.

Los productos amplificados se visualizaron por electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1.5 %, teñido con bromuro de etidio a una concentración final de 0.5 µg/mL, se visualizaron y documentaron bajo luz ultravioleta en un fotodocumentador UVP 310 Gel Doc System (Thermo Fisher Scientific Inc. cat. No. UVP97013804).

3.3.5 Determinación del porcentaje de identidad de las secuencias amplificadas a partir del genoma

Las muestras que presentaron amplicones del tamaño deseado (475 pb), fueron seleccionadas para secuenciación bidireccional. Dichas muestras se enviaron a la empresa MacroGen Inc. (Seúl, Corea del Sur; <https://dna.macrogen.com/main.do>), donde se llevó a cabo la purificación de los productos de PCR y su posterior secuenciación por el método de Sanger, utilizando los mismos oligonucleótidos empleados para la amplificación.

Las secuencias en crudo obtenidas fueron descargadas en formato ab1 y posteriormente editadas para eliminar regiones de baja calidad, utilizando el software BioEdit (v.7.7). Las secuencias complementarias fueron ensambladas para generar una secuencia consenso para cada muestra en el mismo software.

La identificación se realizó mediante análisis de similitud por alineamiento de las secuencias consenso utilizando la herramienta BLASTn del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). La identidad asignada de las secuencias a *T. fructirugosum* fue con base a una

identidad igual o superior al 98 % con secuencias previamente reportadas para el virus disponibles en la base de datos GenBank.

3.3.6 Mantenimiento de las fuentes de infección

Con la finalidad de conservar activos los aislamientos identificados como *T. fructirugosum*, se inocularon mecánicamente en plantas de *Nicotiana occidentalis*, una especie comúnmente utilizada como hospedera en pruebas de transmisión y propagación de tobamovirus debido a su alta susceptibilidad. La inoculación se realizó cuando las plántulas presentaban entre dos y cuatro hojas verdaderas. El material vegetal fue macerado con solución amortiguadora de fosfatos 0.1M (1.0 M de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + 0.1 M de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pH 7.2), en proporción 1:10 (tejido:solución amortiguadora). La suspensión resultante fue aplicada sobre las hojas con la ayuda de un hisopo, previamente espolvoreadas con carburo de silicio, esto con la finalidad de generar heridas subletales y facilitar la infección. Posteriormente, las plántulas fueron mantenidas en condiciones de invernadero bajo observación.

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1 Distribución geográfica de las fuentes de infección

Se recolectaron 11 muestras de material vegetal sintomático en nueve entidades federativas: Chihuahua, Sinaloa, Zacatecas, San Luis Potosí, Querétaro, Tlaxcala, Michoacán, Oaxaca y Morelos. Las muestras fueron obtenidas en campos comerciales durante el ciclo agrícola 2024-2025. La **Figura 18** muestra la distribución geográfica y el número de las muestras recolectadas, en la cual se observa una cobertura representativa de las principales zonas productoras de solanáceas de México. Lo anterior corrobora que el virus está presente en las principales regiones productoras de solanáceas en México.

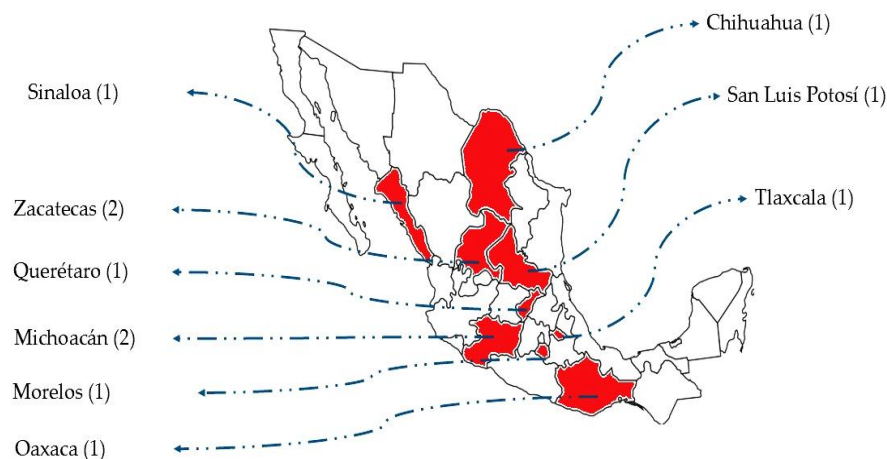


Figura 18. Distribución geográfica de las muestras recolectada de *T. fructirugosum* en México para este estudio.

Los síntomas observados en las plantas recolectadas fueron mosaico y distorsión en folíolos, maduración irregular, lesiones marrones y deformación de frutos en tomate y mosaico en hojas de tomate de cáscara (*Physalis philadelphica* var. Santa Lucía) (**Figura 19**).



Figura 19. Síntomas asociados a la infección por *T. fructirugosum* en solanáceas. (a, b) Mosaico y deformaciones en folíolos de tomate (*S. lycopersicum*); (c) deformación de frutos y brotes jóvenes; (d, f) maduración irregular de frutos; (g, h) lesiones marrones en frutos; (i) deformación de frutos y (j) mosaico en hojas de tomate de cáscara (*P. philadelphica* var. Santa Lucía).

El hallazgo de plantas sintomáticas en estas entidades es respaldado por reportes oficiales (SENASICA, 2020b), lo que corroboró la distribución del virus y la obtención de fuentes de infección que cubrieron las principales regiones productoras de tomate en México para posteriores estudios.

De igual forma, la sintomatología encontrada en plantas muestreadas aportó información sobre la expresión de la enfermedad en condiciones de campo, lo que contribuye a la identificación temprana de focos de infección y al establecimiento de criterios diagnósticos que apoyen las acciones de monitoreo, especialmente en tomate de cascara (*P. philadelphica*), en el cual no existe referencia sobre la sintomatología que expresa este cultivo tras la infección.

3.4.2 Relación entre las muestras, localidades y hospedantes

El **Cuadro 7** presenta el detalle de cada una de las 11 fuentes de infección recolectadas, indicando la localidad de origen, el cultivo hospedante correspondiente y el acrónimo asignado para la posterior identificación de las muestras. La frecuencia de hospedantes en la que se encontraron las muestras positivas resalta que el principal hospedante, al menos en las regiones muestreadas, fue tomate y en menor medida pimiento y tomate de cáscara o tomate verde; este último resalta como cultivo de importancia económica y cultural en México (Alberto-Rosas, 2022), además de que comparte regiones productoras con tomate y chile (DGSIA, 2025) lo que podría permitir la persistencia en esas regiones, alternando hospedantes y representando un riesgo epidemiológico.

Cuadro 7. Fuentes de infección de *T. fructirugosum*, localidades y hospedantes.

Fuente de infección*	Localidad	Hospedante
Sinaloa (SIN)	Los Mochis, Sinaloa	Tomate (S. <i>lycopersicum</i>)
Chihuahua (XCH)	Buenaventura, Chihuahua	pimiento (<i>C. annuum</i>)
Zacatecas 1 (ZAC_SE)	Tabasco, Zacatecas	Tomate de cascara (<i>P. philadelphica</i>)
Zacatecas 2 (ZAC)	Tabasco, Zacatecas	Tomate de cascara (<i>P. philadelphica</i>)
San Luis Potosí (SLP)	Moctezuma, San Luis Potosí	Tomate (S. <i>lycopersicum</i>)
Querétaro (QRO)	Colón, Querétaro	Tomate (S. <i>lycopersicum</i>)

Tlaxcala (TLAX)	Tlaxco, Tlaxcala	Tomate (<i>S. lycopersicum</i>)
Michoacán (MICH)	Tanhuato, Michoacán	pimiento (<i>C. annuum</i>)
Michoacán (MAE) (Primer fuente de infección reportada en México)	Tanhuato, Michoacán	Tomate (<i>S. lycopersicum</i>)
Morelos (MOR)	Yecapixtla, Morelos	Tomate (<i>S. lycopersicum</i>)
Oaxaca (OAX)	Ejutla de Crespo, Oaxaca	Tomate (<i>S. lycopersicum</i>)

*Acrónimo asignado, indicado entre paréntesis, a las fuentes de infección para facilitar la posterior identificación.

3.4.3 Identificación mediante RT-PCR

Extracción de RNA total

Las extracciones de RNA presentaron calidades y cantidades adecuadas (datos no mostrados), lo que permitió preparar concentraciones estándar de cada una de las fuentes de infección y continuar con los experimentos subsecuentes.

Control endógeno

Las muestras resultaron aptas para la amplificación mediante PCR, dado que el control endógeno (18s) mostró amplificación (~300 pb) en todas ellas (**Figura 20**). La amplificación del gen endógeno indicó que, aun cuando en la muestra puedan estar presentes contaminantes como polifenoles y polisacáridos, compuestos que suelen co-purificarse con el RNA e interferir con enzimas como la transcriptasa reversa y la DNA polimerasa, las muestras de RNA obtenidas de las fuentes de infección fueron aptas para la detección específica del virus (Zamboni et al., 2008).

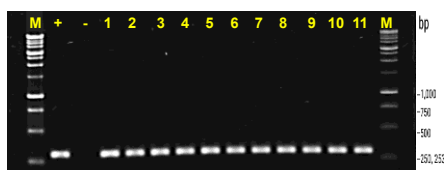


Figura 20. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos específicos para control endógeno (18s). Muestras: MM. Marcador de peso molecular de 1kpb; 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE.

Detección específica de *Tobamovirus fructirugosum*

La presencia del *T. fructirugosum* en las muestras recolectadas fue confirmada mediante RT-PCR. En la **Figura 21** se muestra el gel obtenido tras la electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, donde se observaron bandas del tamaño esperado (~475 pb) en todas las muestras analizadas. El hecho de que todas las muestras resultaran positivas, aun con la diversidad de síntomas observados en campo, sugiere que las distintas manifestaciones asociadas a *T. fructirugosum* podrían deberse a variaciones en la carga viral, del propio virus, a la variedad comercial cultivada, así como al estado fisiológico, estado nutricional o condiciones ambientales de las plantas al momento de la infección y del muestreo (Pesti et al., 2019; Skelton, Gemert, et al., 2023).

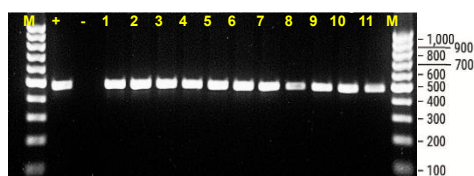


Figura 21. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos (ToBRFV-FMX y ToBRFV-RMX) específicos para el ORF de la RdRp de *T. fructirugosum*. Muestras: M. Marcador de peso molecular de 100pb; 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE.

Determinación del porcentaje de identidad de las secuencias amplificadas a partir del genoma

La comparación de las secuencias consenso en el NCBI arrojaron 100% de identidad y 0.0 de error (E value) con secuencias previamente depositadas e identificadas como provenientes de *T. fructirugosum* (**Cuadro 8**). Este resultado respalda de manera sólida que los amplicones obtenidos a partir de las muestras analizadas correspondieron este tobamovirus.

Cuadro 8. Fuentes de infección, cobertura, identidad y error de las secuencias de *T. fructirugosum* obtenidas en este estudio y comparadas mediante BLASTn en NCBI.

Fuente de infección	Cobertura %	Identidad %	Error
SIN	100	100	0.0
XCH	100	100	0.0
ZAC_SE	100	100	0.0
ZAC	100	100	0.0
SLP	100	100	0.0
QRO	100	100	0.0
TLAX	100	100	0.0
MICH	100	100	0.0
MAE	100	100	0.0
MOR	100	100	0.0
OAX	100	100	0.0

Estos resultados confirmaron la utilidad de la región del ORF de la RdRp amplificada por RT-PCR para la detección específica del virus (W. Zhang et al., 2021; Rodríguez-Mendoza et al., 2019).

Mantenimiento de las fuentes de infección

Las plantas de *Nicotiana occidentalis* inoculadas mecánicamente manifestaron síntomas sistémicos nueve días después de la inoculación. Los síntomas observados incluyeron mosaico y clorosis en las hojas jóvenes que evolucionaron a necrosis en las hojas de mayor edad (**Figura 22**).



Figura 22. Síntomas sistémicos inducidos por *T. fructirugosum* en *N. occidentalis* posterior a la inoculación mecánica. Las plantas inoculadas presentaron síntomas de moteados en hojas jóvenes, clorosis del tejido mesofílico adyacente a las nervaduras y áreas necróticas en hojas maduras.

La aparición de síntomas indicó que las fuentes de infección colectadas se encuentran activas y viables y, por lo tanto, son útiles para su empleo en ensayos posteriores.

En conjunto, estas fuentes de infección representan una colección de fuentes de infección de *T. fructirugosum* para estudios posteriores, de purificación, variabilidad fenotípica y genética, agresividad en condiciones controladas y pruebas de rango de hospedantes; que permitirán la selección de las fuentes de infección a probar en *S. melongena*.

3.5 CONCLUSIONES

Once fuentes de infección se obtuvieron a partir de material vegetal sintomático procedente de nueve estados: Chihuahua (1), Sinaloa (1), Zacatecas (2), San Luis Potosí (1), Querétaro (1), Tlaxcala (1), Michoacán (2), Oaxaca (1) y Morelos (1). En todas, se identificó como agente causal al *T. fructirugosum*. Asimismo, se logró su conservación bajo condiciones de invernadero adecuadas para preservar la viabilidad y disponibilidad del inóculo.

3.6 REFERENCIAS

- Agdia. (2025). *Validation Report: ELISA Test Kits for ToBRFV (Tomato brown rugose fruit virus)*.
<https://d163axztg8am2h.cloudfront.net/static/doc/3b/16/617d14a756986b2b318090b55f1c.pdf>
- Alberto-Rosas, I. (2022). *TRES MEDIDAS DE GANANCIA EN TOMATE DE CÁSCARA (Physalis ixocarpa Brot.); ESTUDIO DE CASO EN TEPETITLA DE LARDIZÁBAL, TLAXCALA*. COLEGIO DE POSTGRADUADOS.
- Alkowni, R., Alabdallah, O., & Fadda, Z. (2019). Molecular identification of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Palestine. *Journal of Plant Pathology*, 101(3), 719–723. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00240-7>
- Bernabé-Orts, J. M., Torre, C., Méndez-López, E., Hernando, Y., & Aranda, M. A. (2021). New Resources for the Specific and Sensitive Detection of the Emerging Tomato Brown Rugose Fruit Virus. *Viruses*, 13(9), 1680. <https://doi.org/10.3390/v13091680>
- Boonham, N., Kreuze, J., Winter, S., Van Der Vlugt, R., Bergervoet, J., Tomlinson, J., & Mumford, R. (2014). Methods in virus diagnostics: From ELISA to next generation sequencing. *Virus Research*, 186, 20–31. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.007>
- Bustin, S. (2002). Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): Trends and problems. *Journal of Molecular Endocrinology*, 29(1), 23–39. <https://doi.org/10.1677/jme.0.0290023>
- Chanda, B., Gilliard, A., Jaiswal, N., & Ling, K.-S. (2021, noviembre). *Comparative Analysis of Host Range, Ability to Infect Tomato Cultivars with Tm-22 Gene, and Real-Time Reverse Transcription PCR Detection of Tomato Brown Rugose Fruit Virus*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1070-RE>

- Dey, K. (2019, mayo). *Tomato brown rugose fruit virus (Tobamovirus, ToBRFV)*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services Division of Plant Industry. <https://ccmedia.fdacs.gov/content/download/83755/file/pest-alert-tomato-brown-rugose-fruit-virus.pdf>
- DGSIAP. (2025). *Panorama Agroalimentario 2025* (No. 15; Panorama Agroalimentario e Infografías Estatales). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/dgsiap/acciones-y-programas/panorama-agroalimentario-258035>
- Gomaa, A. E., & Garcia-Ruiz, H. (2025). Genome-Wide Variation Profile of the Genus Tobamovirus. *Viruses*, 17(9), 1284. <https://doi.org/10.3390/v17091284>
- Luria, N., Smith, E., Reingold, V., Bekelman, I., Lapidot, M., Levin, I., Elad, N., Tam, Y., Sela, N., Abu-Ras, A., Ezra, N., Haberman, A., Yitzhak, L., Lachman, O., & Dombrovsky, A. (2017). A New Israeli Tobamovirus Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-22 Resistance Genes. *PLOS ONE*, 12(1), e0170429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170429>
- Mackay, I. M. (2002). Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Research*, 30(6), 1292–1305. <https://doi.org/10.1093/nar/30.6.1292>
- Menzel, W., & Winter, S. (2021). Identification of novel and known tobamoviruses in tomato and other solanaceous crops using a new pair of generic primers and development of a specific RT-qPCR for ToBRFV. *Acta Horticulturae*, (1316), 143–148. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1316.20>
- Peng, J., Shi, B., Zheng, H., Lu, Y., Lin, L., Jiang, T., Chen, J., & Yan, F. (2015). Detection of pepper mild mottle virus in pepper sauce in China. *Archives of Virology*, 160(8), 2079–2082. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2454-7>

- Pesti, R., Kontra, L., Paul, K., Vass, I., Csorba, T., Havelda, Z., & Várallyay, É. (2019). Differential gene expression and physiological changes during acute or persistent plant virus interactions may contribute to viral symptom differences. *PLoS ONE*, 14(5), e0216618. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216618>
- Rodríguez-Mendoza, J., García-Ávila, C. D. J., López-Buenfil, J. A., Araujo-Ruiz, K., Quezada-Salinas, A., Cambrón-Crisantos, J. M., & Ochoa-Martínez, D. L. (2019). Identificación de Tomato brown rugose fruit virus por RT-PCR de una región codificante de la replicasa (RdRP). *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 37(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1902-6>
- Salem, N. M., Mansour, A., Ciuffo, M., Falk, B. W., & Turina, M. (2016). A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. *Archives of Virology*, 161(2), 503–506. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2677-7>
- SENASICA. (2020). *Panorama Nacional del Virus del fruto rugoso del tomate ToBRFV* (p. 9) [Análisis Estratégico de Riesgos Sanitarios]. AGRICULTURA. https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2020/abril/PANToBRFV_bc6c0958-dc49-4fb5-ac21-355322898f15.pdf
- Skelton, A., Gemert, J. van, Fowkes, A., Frew, L., Alraiss, K., Hodgson, R., Cressey, J., Barnhoorn, R., Macarthur, R., Stijger, I., Verbeek, M., van der Vlugt, R., Koenraad, H., Roenhorst, A., Botermans, M., & Fox, A. (2023). Detection of tomato brown rugose fruit virus is influenced by infection at different growth stages and sampling from different plant parts. *Plant Pathology*, 72(8), 1491–1504. <https://doi.org/10.1111/ppa.13771>
- Vásquez Gutiérrez, U., Delgado-Ortiz, J. C., Frías-Treviño, G. A., Aguirre-Uribe, L. A., & Flores-Olivas, A. (2025). Tobamovirus fructirugosum an emerging disease: Review and current situation in Mexico. *Revista Mexicana de*

Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology, 43(1).
<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2401-7>

Zamboni, A., Pierantoni, L., & De Franceschi, P. (2008). Total RNA extraction from strawberry tree (*Arbutus unedo*) and several other woody-plants. *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 1(4), 122–125.
<https://doi.org/10.3832/ifor0465-0010122>

Zhang, W., Qiu, Y., Zhou, L., Yin, J., Wang, L., Zhi, H., & Xu, K. (2021). Development of a Viral RdRp-Assisted Gene Silencing System and Its Application in the Identification of Host Factors of Plant (+)RNA Virus. *Frontiers in Microbiology*, 12, 682921.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.682921>

CAPÍTULO 4. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y BIOLÓGICA DE ONCE FUENTES DE INFECCIÓN MEXICANAS DE *Tobamovirus fructirugosum*

4.1 RESUMEN

En México, la presencia de *Tobamovirus fructirugosum* se ha documentado en distintas regiones productoras y en varios hospedantes solanáceos, sin embargo, son escasos los estudios enfocados a la caracterización molecular-biológico-carga viral. En estos ensayos se caracterizaron once fuentes de infección de *T. fructirugosum*, provenientes de diferentes regiones de México, mediante estrategias moleculares y biológicas con el fin de evidenciar la variabilidad genética y el comportamiento en diferentes hospedantes. La amplificación y secuenciación parcial de los ORFs que codifican para la polimerasa (RdRp), la proteína de movimiento (MP) y la proteína de cápside (CP) y la concatenación de estas secuencias, demostraron una estructura filogenética con clados diferenciados, lo que indicó diversificación nucleotídica intraespecífica de los aislamientos analizados. El análisis de SNPs evidenció la presencia de sustituciones sinónimas y no sinónimas en las secuencias que codifican para las proteínas virales: las no sinónimas podrían tener implicaciones en la eficiencia de replicación y transcripción de los ácidos nucleicos virales, el movimiento célula a célula, la encapsidación, estabilidad y la interacción con factores de resistencia del hospedero. Por su parte, la interacción plantas diferenciales inoculadas-fuentes de infección presentó diferencias en la expresión, que consistió desde plantas asintomáticas, reacciones de hipersensibilidad, hasta síntomas sistémicos; la capacidad de acumulación de ácidos nucleicos virales fue evaluada, en *Solanum lycopersicum*, *Nicotiana occidentalis* y *Capsicum annuum*, mediante RT-qPCR. Los resultados evidenciados por los Ct, comprobaron que esta acumulación es dependiente de esta interacción. En conjunto, los ensayos expusieron que las fuentes de infección estudiadas son heterogéneas: con variaciones genéticas y fenotípicas que influyen en su virulencia y en la interacción hospedero-patógeno; aportando elementos clave para entender la

epidemiología del virus y establecieron las bases para la toma de decisiones de ensayos posteriores.

Palabras clave: caracterización molecular, caracterización biológica, plantas diferenciales, filogenia y carga viral.

4.2 INTRODUCCIÓN

El *T. fructirugosum* se ha posicionado en la última década como uno de los patógenos virales más relevantes en la producción de *S. lycopersicum* y *C. annuum* a nivel mundial, no solo por la severidad de los síntomas que induce sino también por su capacidad para romper fuentes de resistencia previamente efectivas (Luria et al., 2017; S. Zhang et al., 2022b). Los estudios genómicos disponibles indican que, a pesar de presentar una variabilidad relativamente baja entre genomas completos (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025), el virus se agrupa en varios clados filogenéticos bien definidos, relacionados al origen geográfico y hospedante (De Koning et al., 2025); esta combinación de baja variabilidad genética global, relacionada a la presencia de clados diferenciados, sugiere que pequeños cambios puntuales pueden tener consecuencias relevantes en la interacción con el hospedante, especialmente en términos de virulencia, capacidad de evadir mecanismos de resistencia y rango de hospedantes (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025; S. Zhang et al., 2026).

Esto último, ha llevado a diversos autores a señalar la importancia de analizar regiones específicas del genoma de *T. fructirugosum* como los ORF que codifican para la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), la proteína de movimiento (MP) y la proteína de cápside (CP), ya que estas proteínas cumplen funciones críticas en el ciclo de infección (Ghorbani, 2024; Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025). La RdRp participa en la replicación del genoma viral y, por lo tanto, en la generación de cuasiespecies, mientras que la MP facilita el movimiento célula a célula y de tejido a tejido, y la CP interviene tanto en el ensamblaje de partículas estables como en el movimiento sistémico dentro de la planta (Spiegelman & Dinesh-Kumar, 2023); por lo que cambios puntuales en las secuencias que codifican para

ellas podrían afectar su función (Molad et al., 2025; S. Zhang et al., 2026). En este contexto, se ha documentado que cambios puntuales en estas proteínas de este virus modificaron la eficiencia o capacidad de infección (Ma et al., 2026; S. Zhang et al., 2026) , el tipo e intensidad de síntomas (Molad et al., 2025) y la capacidad del virus para evadir respuestas de defensa específicas, mostradas como resistencia (Hak et al., 2023).

En México, la presencia de *T. fructirugosum* se ha documentado en distintas regiones productoras y en varios hospedantes solanáceos (SENASICA, 2020a). A este respecto, estudios con diferentes fuentes de infección de *T. fructirugosum* han demostrado que su comportamiento biológico puede variar de manera notable; en éstos, se han descrito fuentes de infección con efectos diferenciales sobre variables en la estructura de la planta: altura, peso seco de la parte aérea y rendimiento, así como en la severidad de síntomas en follaje y frutos. En algunos casos, ciertas fuentes de infección redujeron hasta en ~40% el peso seco o el rendimiento, en comparación con otras fuentes de infección (Vasquez Gutierrez, Frías Treviño, et al., 2024). Lo anterior, podría indicar que la relación genotipo–fenotipo del *T. fructirugosum* es variable y que la evaluación de su respuesta biológica debe complementarse con la caracterización molecular del virión para una mayor comprensión de esa interacción. A pesar de estos reportes, la información disponible sobre la variabilidad intraespecífica de los fuentes de infección mexicanas y sobre sus características biológicas (síntomas, rango de hospedantes experimentales y carga viral alcanzada en diferentes hospedantes) sigue siendo escasa. Frente a este escenario, resulta necesario generar estudios que integren el análisis de secuencias (incluida la identificación de polimorfismos de nucleótido único, SNP, por sus siglas en ingles Single Nucleotide Polymorphysm) con ensayos biológicos en plantas diferenciales y hospedantes de importancia económica, para identificar posibles asociaciones entre características moleculares, virulencia y adaptación a hospedantes

Por lo anterior, en este capítulo se caracterizaron molecular y biológicamente a las once fuentes de infección de *T. fructirugosum* recolectadas en México. Se

analizaron secuencias parciales de los ORFs que codifican para la RdRp, la MP, la CP y la concatenación de éstas, con el fin de determinar la relación filogenética entre las fuentes y describir la presencia de SNPs potencialmente relevantes. Desde el enfoque biológico, se evaluó su comportamiento en plantas diferenciales y en hospedantes de interés económico (*S. lycopersicum*, *C. annuum* y *N. occidentalis*), cuantificando la carga de material genético mediante RT-qPCR dirigido a la MP. Esta investigación integrada permitió no solo determinar la diversidad genética de los aislamientos mexicanos, sino también explorar la relación entre variabilidad genética y comportamiento patogénico; lo anterior con finalidad de seleccionar las fuentes de infección más adecuadas para evaluar su respuesta posterior en diferentes variedades de *S. melongena*.

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1 Caracterización molecular

Selección de oligonucleótidos y amplificación por RT-PCR

A partir del cDNA obtenido de las once fuentes de infección (Capítulo 3, punto 3.3.4) se realizó la amplificación específica de una secuencia parcial del ORF que codifica para la MP y la totalidad del de la CP del genoma de *T. fructirugosum* mediante PCR usando oligonucleótidos específicos; los oligonucleótidos para la amplificación de las secuencias de RdRp y CP fueron seleccionados de la literatura (**Cuadro 9**). Para el caso de la MP los reportados tuvieron diferencias en el nivel de amplificación; por lo anterior, se diseñaron oligonucleótidos utilizando secuencias depositadas en el NCBI: se descargaron en formato fasta, se alinearon en el programa BioEdit, se generó una secuencia consenso como referencia, se depositaron en la plataforma Primer3Plus (<https://www.primer3plus.com/index.html>) y se seleccionaron los que cumplieron con los parámetros deseados y evaluándose *in silico*. La competencia se evaluó *in vitro* después de la síntesis (**Cuadro 9**).

Cuadro 9. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de los ORFs por RT-PCR.

Región genómica blanco	Nombre	Secuencia	Tamaño y posición en el genoma	Autor
RdRp	ToBRFV-FMX ToBRFV-RMX	AACCAGAGTCTTCCTATACTCGGAA CTCWCCATCTCTTAATAATCTCCT	475 bp (1999 – 2446)	(Rodríguez-Mendoza et al., 2019)
MP	TF_PV_MP_F TF_PV_MP_R	TGGCTCTTGTTAAGGGTAAAGT CCATCCGTGACGCTCGTAAT	545 bp (4920 – 5452)	En este estudio
CP	TBR-F-5556 TBR-R-6232	GTTTAGTAGTAAAAGTGAGAATAATAG GTTTGCAGACACAATCTGTTATTTAAG	676 bp (5556 – 6232)	(Avni et al., 2022)

Las mezclas de reacción consistieron en 20 µL con 1 µL de DNAC, 1 µL de cada cebador [10 µM], 10 µL iQ Supermix (Bio-Rad, cat. No. 1708865) y 7 µL agua libre de nucleasas. El programa térmico se realizó acorde a lo recomendado para cada juego de oligonucleótidos (**Cuadro 10**). Las condiciones térmicas para la amplificación se llevaron a cabo en un Dual 48/48 Fast Reaction Module (Bio-Rad, cat. no. 1840148) montado sobre un C1000 Thermal Cycler Chassis (Bio-Rad, Cat. No. 1841000).

Cuadro 10. Programas térmicos utilizados para la amplificación de los ORFs por RT-PCR.

ORF	Etapa	Temperatura / Tiempo	Ciclos
RdRp	Desnaturalización inicial	98° C / 90 s	1
	Desnaturalización	98° C / 10 s	35
	Hibridación	55° C / 20 s	
	Extensión	72° C / 40 s	
	Extensión final	72° C / 5 min	1
MP	Desnaturalización inicial	95° C / 3 min	1
	Desnaturalización	95° C / 30 s	40
	Hibridación	55° C / 30 s	
	Extensión	72° C / 36 s	
	Extensión final	72° C / 5 min	1
CP	Desnaturalización inicial	94 / 3 min	1
	Desnaturalización	94 ° C / 30 s	30
	Hibridación	57° C / 30 s	
	Extensión	72° C / 1 min	
	Extensión final	72° C / 10 min	

Los productos obtenidos se verificaron mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio [0.5 µg/mL] y se documentaron

bajo luz ultravioleta en un fotodocumentador UVP 310 Gel Doc System (Thermo Fisher Scientific Inc. cat. No. UVP97013804).

Secuenciación

Los productos de PCR se enviaron para purificación y secuenciación bidireccional en Macrogen (Seúl, Corea del Sur, <https://dna.macrogen.com/>). Las secuencias crudas fueron revisadas y ensambladas utilizando BioEdit v7.2.5, para eliminar regiones de baja calidad, se unificaron las lecturas mediante la creación de las secuencias consenso y se verificó la congruencia con el electroferograma.

Comparación en NCBI

El conjunto de secuencias parciales consenso en estudio (SPCE) se cargaron a la herramienta BLASTn del NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) y mediante parámetros de búsqueda específicos para secuencias mexicanas se seleccionaron las que tuvieran mayor porcentaje de cobertura e identidad con secuencias de *T. fructirugosum* depositadas previamente (**Cuadro 11**); se descargaron y, junto con las secuencias obtenidas de las fuentes de infección colectadas en este estudio, se utilizaron para construir bases de datos para cada ORF objetivo que incluyeron también otras secuencias mexicanas de referencia (SMR) disponibles en el NCBI. Posteriormente, se utilizó el algoritmo MUSCLE en MEGA X, usando parámetros por defecto, para la alineación y facilitar la comparación entre las secuencias a nivel nucleotídico y reconstrucción filogenética. Las SMR específicas para cada ORF se seleccionaron a partir de secuencias de genomas completos depositados en el NCBI. Para los análisis posteriores, se añadió la primera secuencia de referencia (PSR) de *T. fructirugosum*: número de acceso KT383474.1 (N. M. Salem et al., 2016).

Cuadro 11. Número de accesión, región genómica y autor de las secuencias mexicanas de *T. fructirugosum* empleadas para la identificación de SNPs y análisis filogenéticos.

Numero de accesión	Region	Hospedante	Autor
OM892690.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)
OM782671.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	Cruz-Lachica et al., 2022
MK319944.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Camacho-Beltrán et al., 2019)
OQ427353.1	Genoma completo	<i>C. annuum</i> cv. Ocelote	(Miranda et al., 2023)
OM892690.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)
OM892691.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)
OM892688.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)
OM892687.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)
OM892684.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)
OM892675.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)
OK339579.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Alcala et al., 2022)
MW349655.1	Genoma completo	<i>C. annuum</i> cv. Tampiqueño	(Ortiz et al., 2021)
OM892686.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)
OM892685.1	Genoma completo	<i>S. lycopersicum</i>	(Abrahamian et al., 2022)

Reconstrucción filogenética

El análisis filogenético se realizó con MrBayes v3.2.7, empleando modelos de sustitución de nucleótidos con tasas variables entre sitios, modeladas mediante una distribución gamma con una proporción de sitios invariantes (G+I). Para cada conjunto de datos se corrieron 10,000,000 de generaciones de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), muestreando un árbol cada 1,000 generaciones. Se descartó el 25% inicial de las muestras como “burn-in” y el conjunto restante

de árboles se utilizó para estimar la topología consenso y arrojar el más probable. Para el enraizamiento de los árboles filogenéticos se utilizó la PSR de *T. fructirugosum* disponible la base de datos del NCBI, para conservar la orientación evolutiva y facilitar la interpretación comparativa entre grupos.

Con la finalidad de obtener un análisis filogenético representativo que conjuntara los diferentes fragmentos, se realizó la concatenación de las secuencias utilizando el programa Mesquite (v 3.81) y se reconstruyó la filogenia utilizando los mismos parámetros que las secuencias individuales. Las sustituciones nucleotídicas (SNPs) en las SPCE y SMR se determinaron de acuerdo con el cambio evolutivo expresado en valores numéricos dentro del árbol: valores bajos indicaron menor número de sustituciones y viceversa.

La probable variabilidad nucleotídica obtenida de estas secuencias parciales se corroboró mediante la reconstrucción filogenética con secuencias de genomas completos depositadas en el NCBI. Esta reconstrucción se realizó del mismo modo que las anteriores.

Identificación de los SNPs

La herramienta *Highlight variable sites* de MEGA X se utilizó con el propósito de evidenciar los cambios probables de SNPs entre las secuencias consenso en estudio y las SMR depositadas en el NCBI con respecto a la primer secuencia reportada. Las secuencias nucleotídicas se tradujeron a aminoácidos (aa) mediante la función *Translate sequences* en el programa Mega X con el propósito de predecir si los SNPs detectados podrían dar lugar a cambios en la secuencia de aminoácidos, tomando como referencia la primera secuencia reportada de *T. fructirugosum* (PSR) (N. M. Salem et al., 2016).

Los resultados obtenidos mediante esta caracterización molecular se confrontaron en diversos hospedantes.

4.3.2 Caracterización biológica

Purificación de Viriones

La purificación se realizó con la finalidad de obtener viriones en concentraciones conocidas y estandarizadas. Este proceso consistió en dos etapas: inoculación mecánica y purificación.

En la primera etapa se inocularon mecánicamente plantas de incremento (*S. lycopersicum* cv. Rio Grande) como se citó en el punto 3.3.6 (Capítulo 3) y en la segunda etapa, 25 DPI se colectó todo el tejido foliar y se procedió conforme al protocolo específico para la purificación de tobamovirus (Dijkstra & De Jager, 1998). El protocolo consistió en la homogenización del tejido foliar con solución amortiguadora de extracción (0.5 M de NaH_2PO_4 y 1 % (v/v) de 2-mercaptoetanol, pH 7.2) en una proporción de 1:1. La mezcla se filtró a través de una gasa estéril y se midió el volumen del extracto. Con agitación continua, se agregaron 8 mL de n-butanol por cada 100 mL de extracto. Se mantuvo en agitación durante 15 minutos para permitir la coagulación de los cloroplastos. La suspensión se centrifugó a $10,000 \times g$ durante 30 minutos y se recuperó el sobrenadante y se descartó el pellet. Con agitación constante, se añadieron 4 g de polietilenglicol (PEG) 6000 por cada 100 mL de sobrenadante hasta su disolución completa. La suspensión se centrifugó a $10,000 \times g$ durante 15 minutos, se descartó el sobrenadante y se resuspendió el pellet en solución amortiguadora de fosfato (0.01 M NaH_2PO_4 , pH 7.2) en una proporción de 20 mL por cada 100 mL del extracto inicial. La suspensión se centrifugó nuevamente a $10,000 \times g$ durante 15 minutos y se descartó el pellet. Se añadieron 0.4 g de NaCl y 0.4 g de PEG 6000 por cada 10 mL de sobrenadante, asegurando su completa disolución mediante agitación. La suspensión se centrifugó a $10,000 \times g$ durante 15 minutos, se descartó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en solución amortiguadora de almacenamiento (0.01 M NaH_2PO_4 y 0.001 M de NaN_3 , pH 7.2) en una proporción de 2 mL por cada 100 mL del extracto inicial. Finalmente, la suspensión se centrifugó a $10,000 \times g$ durante 5 minutos y el pellet se descartó, obteniendo una suspensión blanquecina. Nota: para facilitar la manipulación de

las muestras a procesar se dividieron en dos partes, por lo que se obtuvieron aproximadamente 4mL de extracto final dividido en dos tubos.

Estos extractos divididos se cuantificaron para medir el contenido de proteína mediante espectrofotometría (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, Cat. No. ND-2000) a una longitud de onda de 280nm y se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

Determinación de la cantidad de viriones a inocular

La Dosis Infectiva Óptima (DIO), se define como la concentración de inóculo suficiente (concentración de viriones) para asegurar la manifestación de síntomas en las plantas, sin llegar a provocar daños excesivos que pudieran interferir en la evaluación del patógeno, como la defoliación severa o la necrosis generalizada (Cita); A este respecto, reportes previos (Kleczkowski, 1950; Nourinejhad-Zarghani et al., 2022, 2024), evaluaron diferentes dosis y factores de dilución para determinar, mediante la inducción de lesiones locales en plantas indicadoras de *N. tabacum* var. Xanthi, las que generaron una respuesta sintomatológica reproducible y controlada y encontraron que a una concentración de ~ 0.048 mg.mL⁻¹ de proteína viral aún se presenta una reacción de hipersensibilidad visible, aunque baja. Tomando en cuenta estudios anteriores, se decidió realizar un ensayo probando diferentes concentraciones: 1 mg.mL⁻¹, 0.5 mg.mL⁻¹, 0.1 mg.mL⁻¹ y un control testigo que fue inoculado solo con solución amortiguadora de fosfatos sin suspensión viral, para determinar la concentración a utilizar ensayos posteriores.

Inoculación mecánica y respuesta de hospedantes diferenciales

Para la inoculación se utilizaron las siguientes plantas diferenciales: *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa*, *N. clevelandii*, *N. benthamiana*, *N. occidentalis*, *N. rustica*, *N. virginia*, *Chenopodium album*, *C. amaranticolor*, *Datura stramonium*, *D. metel*, *C. annuum*, *S. lycopersicum*, *S. melongena*, *Physalis floridana* y *P. philadelphica*. Este ensayo se estableció el 15 de agosto del 2024 y terminó el 15 de septiembre del 2024, donde imperaron temperaturas máximas promedio de 25.2°C y

mínimas de 11.4°C. Las plantas se inocularon cuando presentaron la edad adecuada dependiendo de la especie (EPPO, 2022b). Para realizar la inoculación mecánica, se realizó una suspensión viral a partir de los viriones purificados en solución amortiguadora de fosfatos (NaH_2PO_4 0.1 M + Na_2HPO_4 0.1 M, pH 7.2); los testigos consistieron en un juego de plantas inoculadas de la misma forma a excepción de que la solución amortiguadora no contuvo viriones. A las hojas de las plantas diferenciales se les espolvoreó carburo de silicio con tamaño de grano #400. Posteriormente, se humedeció un hisopo en la suspensión viral y se frotó suavemente sobre la lámina de la hoja a inocular. La respuesta de las plantas se monitoreó diariamente durante los primeros 10 DPI y posteriormente, cada semana hasta los 30 DPI. Los síntomas observados se registraron y se compararon entre las diferentes fuentes de infección, así como con el grupo de plantas testigo.

4.3.3 Evaluación de la carga viral en diferentes hospedantes

Este ensayo se estableció en diferentes fechas: 21 de septiembre de 2024, para *C. annuum* y *N. occidentalis* y 20 de enero de 2025 para *S. lycopersicum*, en el invernadero de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Las plántulas se trasplantaron en suelo previamente esterilizado cuando tenían de 2 a 3 hojas, y se inocularon 3 semanas después de trasplante. 100 µL de la suspensión viral, a la misma concentración que en el punto anterior, se infiltraron mediante jeringas de insulina (BD Ultra-Fine 30 g X 13 mm) en dos hojas de cada una de las especies. Las plantas se trasladaron a invernadero, en donde se mantuvieron bajo condiciones controladas. Las condiciones de invernadero fueron temperatura promedio de 22°C y humedad relativa del 76%.

25 días DPI se recolectaron 0.1g de tejido foliar joven para su procesamiento por RT-qPCR. La extracción de RNA total se realizó mediante el método del *TRIzol* Reagent acorde al protocolo sugerido por el fabricante y se determinó la competencia de los extractos (3.3.2). Y se realizó la síntesis de cDNA (3.3.4).

Para la reacción de qPCR se utilizó el set de oligonucleótidos y sonda CaTa28 propuesto por la International Seed Health Initiative for Vegetable Crops que amplifican un fragmento del ORF de la MP (ISHI-Veg, 2019) y autorizados por SENASICA a través del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF, 2022) (**Cuadro 12**).

Cuadro 12. Set de oligonucleótidos y sonda utilizados para la evaluación mediante qPCR de la carga viral.

Componente	Secuencia	Tamaño del fragmento
CaTa28 Fw	GGTGGTGTCAGTGTCTGTTT	140 pb
CaTa28 Pr	FAM - AGAGAATGGAGAGACGGACGAGG - BHQ1	
CaTa28 Rv	GCGTCCTTGGTAGTGATGTT	

La reacción de qPCR se preparó en un volumen final de 20 µL, que incluyó 5 µL de SsoAdvanced Supermix [2×] (Bio-Rad, Cat. No. 1725280), 1 µL de cada oligonucleótido [10 µM], 0.5 µL de la sonda CaTa28 Pr [10 µM], 11.5 µL de agua libre de nucleasas y 1 µL de cDNA.

La amplificación y detección se realizaron en un sistema CFX96 Real-Time PCR (Bio-Rad, Cat. No. 1845097) montado sobre un C1000 Thermal Cycler Chassis (Bio-Rad, Cat. No. 1841000), el cual registró la fluorescencia emitida por el fluorocromo FAM al separarse del quencher BHQ1, misma que fue registrada y visualizada mediante el software del equipo. Los resultados de la técnica se interpretaron bajo dos criterios: la dinámica de la curva de amplificación, como criterio cualitativo, y la acumulación de la fluorescencia en el ciclo de superación del umbral (Ct, por sus siglas en inglés Cycle threshold), como resultado cuantitativo: a menor Ct, mayor cantidad inicial de secuencia blanco detectada y viceversa, a mayor Ct, menor cantidad de secuencia blanco inicial (Karlen et al., 2007).

4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1 Caracterización molecular

RT-PCR

La amplificación de los fragmentos de los ORFs del genoma viral objetivo utilizando los oligonucleótidos seleccionados fueron del peso molecular sugerido por los autores (CNRF, 2022; EPPO, 2022a; SENASICA, 2019), con lo cual se determinó su funcionalidad y especificidad para *T. fructirugosum* (Figuras 23, 24 y 25).

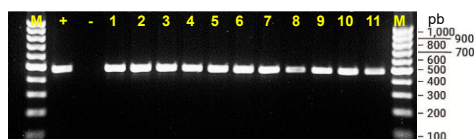


Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos (ToBRFV-FMX y ToBRFV-RMX) específicos para el ORF de la RdRp de *T. fructirugosum*. Muestras: M. Marcador de peso molecular de 100pb (Promega, Cat. No. G2101); 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE



Figura 24. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos específicos (TF_PV_MP_F y TF_PV_MP_R) diseñados para el ORF de la MP de *T. fructirugosum*. Muestras: M. Marcador de peso molecular de 1kb (Thermo Fisher Scientific, Cat. No. 12308-011); 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE

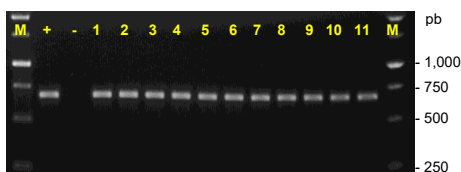


Figura 25. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% mostrando los fragmentos amplificados mediante RT-PCR utilizando oligonucleótidos (TBR-F-5556 y TBR-R-6232) específicos para el ORF de la CP de *T. fructirugosum*. Muestras: M. Marcador de peso molecular de 1kb (Promega, Cat. No. G5711); 1. XCH; 2. QRO; 3. OAX; 4. SIN; 5. MICH; 6. SLP; 7. MOR; 8. TLAX; 9. MAE; 10. ZAC; 11. ZAC SE.

Reconstrucción filogenética:

Con la secuencia parcial que codifica para RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp)

El arreglo topológico en clados implica, entre otras características, que las secuencias en análisis comparten al menos una sustitución nucleotídica en la misma posición (Huelsenbeck et al., 2001). La reconstrucción filogenética a partir de las secuencias obtenidas de la amplificación parcial del ORF que codifica para la RdRp de las diferentes fuentes de infección arrojó un solo clado con una pequeña divergencia dentro del análisis en la cual, de las muestras colectadas, solo se encuentra la secuencia QRO (**Figura 26**). La conservación de esta región genómica sugiere que, por su función central en la replicación viral, se encuentra bajo una presión funcional que limita la diversidad (Rodríguez-Mendoza et al., 2019; W. Zhang et al., 2021). La agrupación observada indica que las fuentes de infección mexicanas tienen conservada la región del ORF que codifica para RdRp. Sin embargo, estudios han demostrado que mutaciones específicas en diferentes dominios de esta región pueden alterar la patogenicidad viral (Ávila-Alistac et al., 2024), es por esto que el subclado divergente, representado por QRO con soporte bootstrap de 0.9837, podría representar una variante con características patogénicas diferentes con adaptaciones locales que influyen en el comportamiento del patógeno en condiciones ambientales específicas de México y hospedantes.

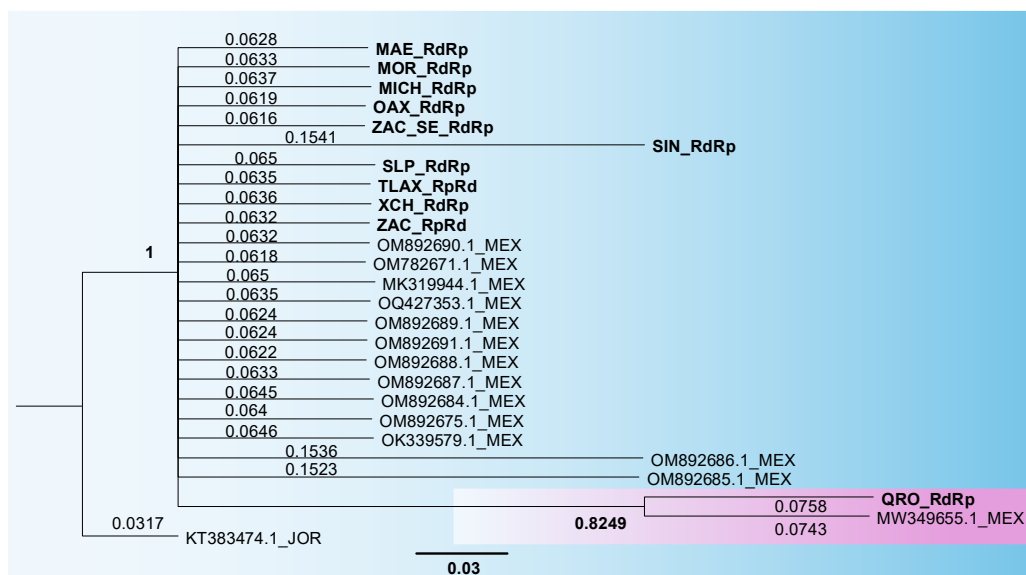


Figura 26. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias parciales del ORF que codifica para la ARN polimerasa dependiente de ARN de fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* bajo estudio y secuencias de esta región depositadas en el NCBI. Los valores en los nodos indican probabilidades posteriores. La longitud de las ramas refleja la cantidad de cambio evolutivo (sustituciones por sitio) acumulado.

Con la secuencia parcial que codifica para proteína de movimiento (MP)

El análisis filogenético bayesiano de las secuencias obtenidas de la amplificación parcial del ORF que codifica para MP, a partir de las fuentes de infección analizadas, evidenció que esta región del genoma presentó diversidad nucleotídica. En este, se reveló un clado principal en el cual se encontraron las fuentes de infección MAE, MOR, TLAX y XCH; de este mismo, se desprendió un subclado en el que se encontraron MICH, OAX, SIN y ZAC; a su vez, de este último divergió otro subclado con QRO, SLP y ZAC_SE (**Figura 27**). Esta estructura en clados y subclados sugiere que esa región del genoma analizada acumula mutaciones a lo largo del tiempo y que esas fuentes de infección podrían estar asociadas a adaptaciones locales donde se colectaron. En este sentido, esta aparente agrupación de aislamientos de diversos hospedantes y estados distantes dentro de un mismo clado (por ejemplo, primer subclado: MICH (*C. annuum*), OAX-SIN (*S. lycopersicum*), ZAC (*P. philadelphica*)) podría implicar que, aunque la MP difiriera en su composición de aminoácidos tiene suficiente

flexibilidad para soportar distintas condiciones y aun así ser funcional en la interacción con múltiples hospederos y ocasionar enfermedad. La variabilidad en esta secuencia fue reflejada contundentemente en la formación del subclado que incluyó a QRO, SLP y ZAC_SE, ya que presentó la máxima distancia con respecto a la PSR. Estos datos sitúan a esta región del genoma como candidata a ser analizada para estudios de variabilidad nucleotídica en el genoma de este virus y se suma a lo reportado previamente (Ghorbani, 2024); además la sitúa como otra región candidata al ORF1 en ese aspecto (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025)

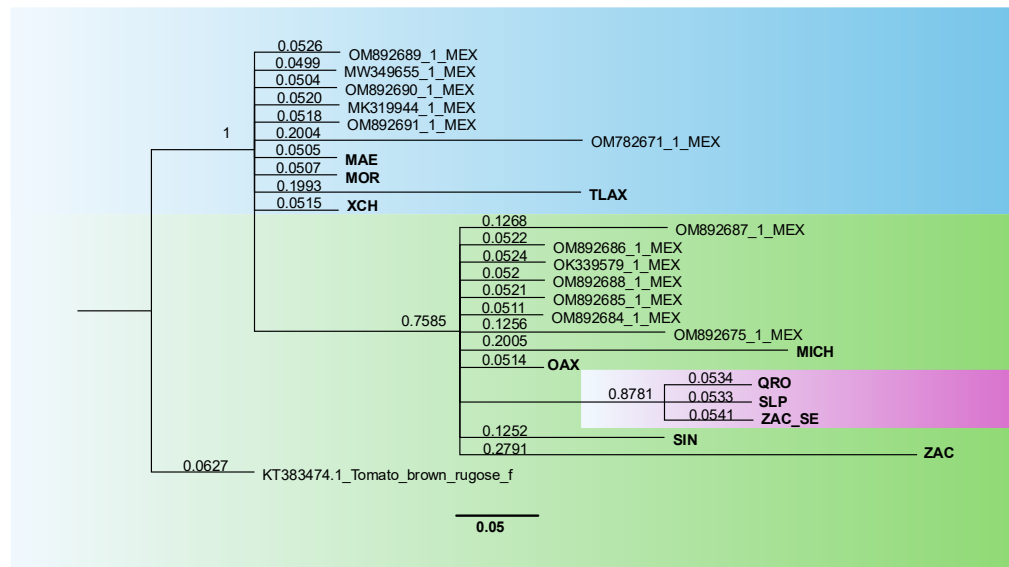


Figura 27. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias parciales del ORF que codifica para la proteína de movimiento de fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* bajo estudio y secuencias de esta región depositadas en el NCBI. Los valores en los nodos indican probabilidades posteriores. La longitud de las ramas refleja la cantidad de cambio evolutivo (sustituciones por sitio) acumulado.

Con la secuencia que codifica para proteína de cápside (CP)

El análisis filogenético bayesiano de las secuencias obtenidas de la amplificación parcial del ORF que codifica para CP reveló que, al igual que la RdRp, es una región conservada parcialmente, ya que ocho de las SPCE se agruparon en un clado mayor junto con la mayoría secuencias depositadas en el NCBI; y de este clado mayor se originó un subclado en el cual se ubicaron las SPCE: QRO, SLP

Phylogenetic tree showing relationships between various accessions. The tree is rooted at the bottom left with KT383474.1_Tomato_brown_rugose_f. A scale bar at the bottom indicates 0.03 substitutions per site. Accessions are listed on the right, grouped by color-coded boxes: blue for most accessions, pink for SLP_CP, QRO_CP, and ZAC_SE_CP, and yellow for ZAC_CP. Bootstrap values are shown at nodes.

Accession	Group	Bootstrap Value
OQ427353.1_MEX	Blue	0.0577
OM892690.1_MEX	Blue	0.0582
OM892689.1_MEX	Blue	0.0581
OM892691.1_MEX	Blue	0.0588
OM782671.1_MEX	Blue	0.058
MW349655.1_MEX	Blue	0.1397
MK109003.1_MEX	Blue	0.1423
OM892675.1_MEX	Blue	0.0574
OM892686.1_MEX	Blue	0.0577
OM892684.1_MEX	Blue	0.0577
OM892685.1_MEX	Blue	0.1422
OM892687.1_MEX	Blue	0.0586
OK339579.1_MEX	Blue	0.1402
OM892688.1_MEX	Blue	0.1412
MK319944.1_MEX	Blue	0.0583
ZAC_CP	Yellow	0.0575
TLAX_CP	Blue	0.2243
MOR_CP	Blue	0.0587
MAE_CP	Blue	0.0584
SIN_CP	Blue	0.0568
OAX_CP	Blue	0.0582
XCH_CP	Blue	0.1427
MICH_CP	Blue	0.057
SLP_CP	Pink	0.062
QRO_CP	Pink	0.0613
ZAC_SE_CP	Pink	0.0615
KT383474.1_Tomato_brown_rugose_f	Root	0.0291

Con las secuencias concatenadas

146

dentro de las secuencias nucleotídicas analizadas y que aparentemente no alteran su patogenicidad.

El clado principal, conformado por MOR, MAE, TLAX y XCH, podría representar un linaje basal dentro del conjunto de las SPCE. El que dentro de este grupo se encuentre la secuencia MAE, obtenida de la primera fuente de infección reportada en México, podría indicar que este clado agrupa fuentes de infección relacionadas al linaje inicialmente detectado en el país y que no han sufrido cambios importantes, al menos en las secuencias analizadas. A partir de este clado principal se desprendieron dos subclados adicionales que agrupan a las fuentes de infección MICH, OAX, SIN y ZAC, y de este a QRO, ZAC_SE y SLP; esta subramificación en la topología sugiere una diversificación nucleotídica a partir del clado principal y potencialmente que todas las fuentes de infección tengan su origen en las primeras detecciones en el país. Además, este patrón de ramificación progresiva podría reflejar una adaptación molecular que le ha permitido la dispersión hacia nuevas regiones o sistemas de producción, seguida de la acumulación gradual de mutaciones que favorecen la diversificación genética entre aislamientos.

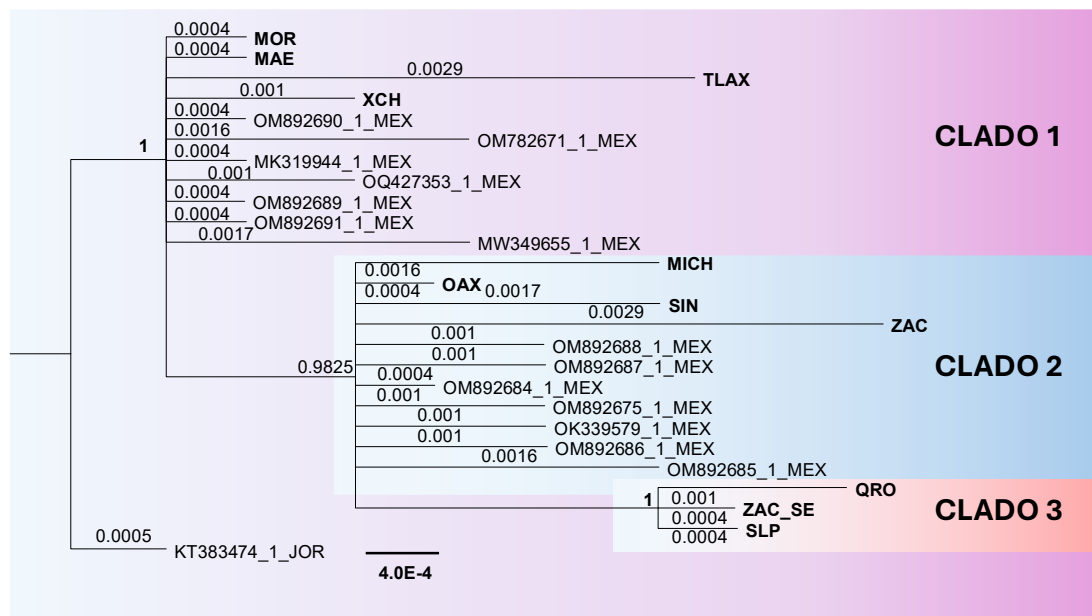


Figura 29. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias parciales del *T. fructirugosum*. Los valores en los nodos indican probabilidades posteriores. La longitud de las ramas refleja la cantidad de cambio evolutivo (sustituciones por sitio) acumulado.

Dentro de cada subclado se identificaron secuencias provenientes de fuentes de infección con un mayor número de sustituciones, particularmente TLAX en el clado principal, ZAC en el primer subclado y QRO en el segundo. La mayor acumulación de sustituciones en las SPCE, podría indicar que representan linajes más divergentes dentro de sus respectivos clados. Este patrón sugiere que algunas “poblaciones virales” podrían estar experimentando procesos de diversificación nucleotídica, asociados con diferencias en las rutas de dispersión de material contaminado, adaptación a condiciones locales o acumulación de mutaciones a lo largo del tiempo; además que estas fuentes de infección están sometidas a presiones selectivas diferenciadas, posiblemente vinculadas a la interacción con genotipos específicos del hospedante en sus condiciones de cultivo (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025)

Este árbol filogenético (**Figura 29**) presentó una topología similar a la obtenida con las secuencias parciales de la MP (**Figura 27**). Esto sugirió que las secuencias de la MP ejercieron una fuerte influencia en la topología. Esto puede explicarse por la alta variabilidad genética presente en la MP, en contraste con las regiones más conservadas del genoma viral (RdRp y la CP). En consecuencia, aunque el análisis concatenado incorpora tanto regiones conservadas como variables, la mayor cantidad de sitios variables en las secuencias nucleotídicas presentes en la MP puede dominar la señal filogenética y determinar en gran medida el patrón de agrupamiento observado. Este resultado confirmó que la variabilidad de esta región del genoma desempeña un papel importante en la diversificación de las SPCE y en la estructuración filogenética de la población viral analizada.

La formación de un subclado (SPCE: QRO, SLP y ZAC_SE) tanto en la reconstrucción filogenética a partir de secuencias parciales nucleotídicas del ORF que codifica para la MP (**Figura 27**) y la secuencia completa de la CP (**Figura 28**) en las SPCE se corroboró con esta reconstrucción (**Figura 29**). Estos resultados sugirieron la separación y por consiguiente la emergencia de variantes de este virus que se han adaptado a condiciones agroecológicas presentes en la

región central de México; este fenómeno es soportado por estudios en otras regiones del mundo (De Koning et al., 2025; Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025; van de Vossenberg et al., 2020).

El análisis filogenético de las SPCE demostró ser suficiente para caracterizar la diversidad nucleotídica en el genoma del virus. Dentro de las regiones del genoma analizadas, destacó la que codifica para la MP, la cual dominó la topología del árbol filogenético aun con la reconstrucción con secuencias concatenadas y la sitúa como una región confiable para determinar este propósito. Al menos en las condiciones de este estudio.

La variabilidad observada, con estas SPCE obtenidas de las fuentes de infección mexicanas en estudio, fue corroborada con una reconstrucción a partir de secuencias de genomas completos reportadas en el NCBI (SGCR) (**Figura 30**). Este análisis demostró que existe variabilidad nucleotídica y por lo tanto genética del virus en México.

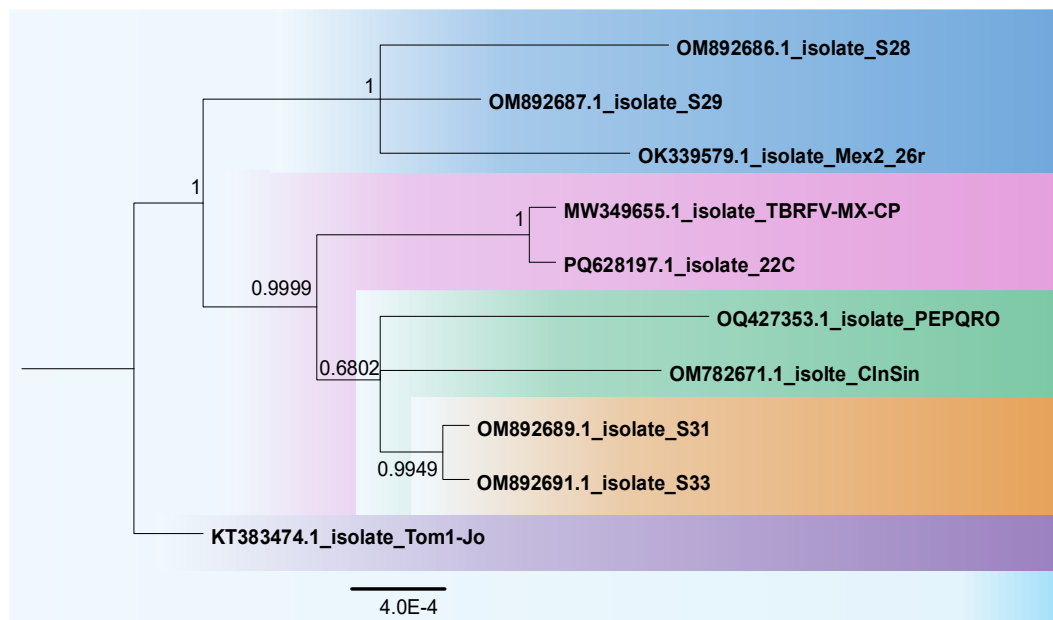


Figura 30. Árbol filogenético construido con inferencia bayesiana a partir de secuencias de genomas completos de fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* reportadas en el NCBI.

Esta reconstrucción filogenética separó a las SGCR en cuatro clados, demostrando así la variabilidad dentro del genoma del virus y coincidió con reportes previos globales similares que demostraron este hallazgo (De Koning et al., 2025; Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025; van de Vossenberg et al., 2020).

Hasta este punto de la investigación se ha demostrado la variabilidad nucleotídica en las SPCE, sin embargo, no se ha confirmado su posible impacto en la expresión fenotípica a nivel proteína.

Identificación de los SNPs y la probable influencia en la traducción

En las SPCE y las SMR que amplifican para los ORFs RdRp, MP y CP del genoma viral se observaron patrones diferenciales de variabilidad nucleotídica. Las SPCE para la RdRp presentaron el menor número de polimorfismos, con cuatro SNPs en total con respecto a la PSR, de los cuales dos estuvieron presentes en las fuentes de infección colectadas y dos en las SMR (**Cuadro 13**). Las SPCE de SIN y QRO generaron cambios no sinónimos en la secuencia de aminoácidos de prolinas y leucinas a serinas, respectivamente; el SNP de QRO coincidió con una de las SMR (MW349655.1), este cambio podría tener influencia en la actividad enzimática y por lo tanto su actividad replicativa, lo que podría traducirse en mayor severidad en la expresión de síntomas como se ha sugerido previamente al analizar este fragmento (Ávila-Alistac et al., 2024).

Por otro lado, la baja frecuencia de variación en este ORF ha sido observada anteriormente y determinada como marcador genético para detección de este virus (Rodríguez-Mendoza et al., 2019); además, dada su función esencial en la replicación, refuerza su utilidad para el diseño de estrategias moleculares basadas en la interferencia génica (iRNA) para silenciar o limitar la expresión de esta proteína y por lo tanto la replicación del genoma viral y la transcripción de los subgenómicos (Weiss et al., 2026).

Cuadro 13. Cambios probables de SNPs entre las secuencias consenso en estudio y las secuencias mexicanas depositadas en el NCBI con respecto a la primer secuencia reportada.

ORF	ID de la secuencia	Posición	Posición en codón	Cambio de nucleótido*	Cambio probable (aa)
RdRp	SIN	2098	1 ^a	C → U	Pro → Ser
	QRO y				
	MW349655.1	2270	2 ^a	U → C	Leu → Ser
	OM892685.1	2415	3 ^a	U → C	Asp → Asp
MP	OM892686.1	2446	1 ^a	U → C	Leu → Leu
	ZAC	64	1 ^a	U → C	Phe → Leu
	MAE	78	3 ^a	G → A	Met → Ile
	SIN	150	3 ^a	C → U	Ser → Ser
	OM892675	213	3 ^a	U → C	Leu → Leu
	OM782671	243	3 ^a	U → C	Asp → Asp
	ZAC	524 y 525	2 ^a y 3 ^a	AG → GA	Glu → Gly
	QRO, SLP y ZAC SE	696	3 ^a	A → G	Pro → Pro
	TODAS**	697	1 ^a	G → A	Asp → Asn
	MAE	707	1 ^a	A → G	Gln → Arg
	TLAX	715	1 ^a	G → C	Glu → Gln
	TLAX	763	1 ^a	G → A	Glu → Lys
	ZAC_SE, ZAC, SLP, SIN, QRO, OAX, MAE, OM892675, OM892684, OM892685, OM892688, OK339579, OM892686 y OM892687	778	1 ^a	A → G	Val → Ile
	OM892687	783	3 ^a	C → U	Ala → Ala
	OM782671	789	3 ^a	A → G	Ser → Ser
	OK339579	99	3 ^a	U → A	Gly → Gly
	TLAX	135	3 ^a	U → C	Val → Val
	OM892688	193	1 ^a	G → A	Asp → Asn
CP	TLAX	282	3 ^a	U → C	Ile → Ile
	MW349655	390	3 ^a	A → G	Val → Val
	XCH	393	3 ^a	A → U	Val → Val
	SLP, QRO y ZAC_SE	430	1 ^a	A → G	Thr → Ala
	MK109003	440	2 ^a	G → A	Ser → Asn
	OM892685	442	1 ^a	G → A	Ala → Thr

*La base nitrogenada en negritas representa el cambio de SNP detectado en las secuencias en estudio con respecto a la secuencia de referencia *T. fructirugosum* (N. M. Salem et al., 2016); **Todas, se refiere a que tanto las SPCE y las SMR presentaron el mismo SNP en la misma posición.

En contraste, las SPCE de la MP mostraron el mayor número de cambios, con quince SNPs detectados, once de ellos presentes en las fuentes de infección colectadas (**Cuadro 13**). De estos SNPs, siete produjeron cambios no sinónimos, lo que sugiere una mayor plasticidad de esta proteína a las mutaciones asociadas con procesos de adaptación relacionados con el movimiento célula a célula y la interacción con el hospedante (Ghorbani, 2024). En los SPCE y las SMR se detectó un SNP en la posición 697 (G → A) el cual originó un cambio de Asp → Asn y otro SNP en la posición 778 (A → G) de Val → Ile; si bien estos cambios en estos aminoácidos no alteran la estructura de la proteína, podrían explicar su estabilidad para realizar su actividad bajo diferentes condiciones como las imperantes en la República Mexicana, como lo sugieren estudios anteriores con este virus cuando hipotetizaron la variabilidad observada en regiones globales (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025; van de Vossenberg et al., 2020).

Por su parte, las SPCE de la CP presentaron una variación intermedia, con nueve SNPs en total y cuatro presentes en las fuentes de infección analizadas (**Cuadro 13**), de éstos, tres generaron cambios no sinónimos. Este patrón concuerda con la naturaleza relativamente conservada de esta proteína, debido a las restricciones funcionales asociadas con el ensamblaje y estabilidad del virión, así como con su papel en el movimiento sistémico dentro de la planta. Sin embargo, el cambio de SNP en la posición 430 de A → G que induce un cambio no sinónimo (Thr → Ala) podría tener un efecto en la estabilidad a largo plazo de la CP y por lo tanto del virión, pero el cambio a Ala (aminoácido hidrofóbico y menor tamaño) le da mayor flexibilidad para adaptarse a diferentes condiciones ambientales (Lehninger, 2009)

En resumen, las SPCE, que representan el 26.5% del genoma viral, mostraron diferencias en el número de SNPs detectados; siendo MICH, MOR, OAX y XCH las que presentaron el menor número (1 y 2) con respecto a las demás (**Figura 31**); las siete restantes presentaron entre 4 y 5 SNPs. Lo anterior evidenció el grado de adaptación genómica, expresada en las proteínas de la mayoría de las fuentes de infección, en la interacción hospedante-ambiente-tiempo (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025; van de Vossenbergh et al., 2020). Las que presentaron el menor número de SNPs provienen de fuentes de infección de regiones con menores ciclos productivos anuales, lo que sugeriría menor presión de selección y por lo tanto menor probabilidad de mutación en el genoma viral.

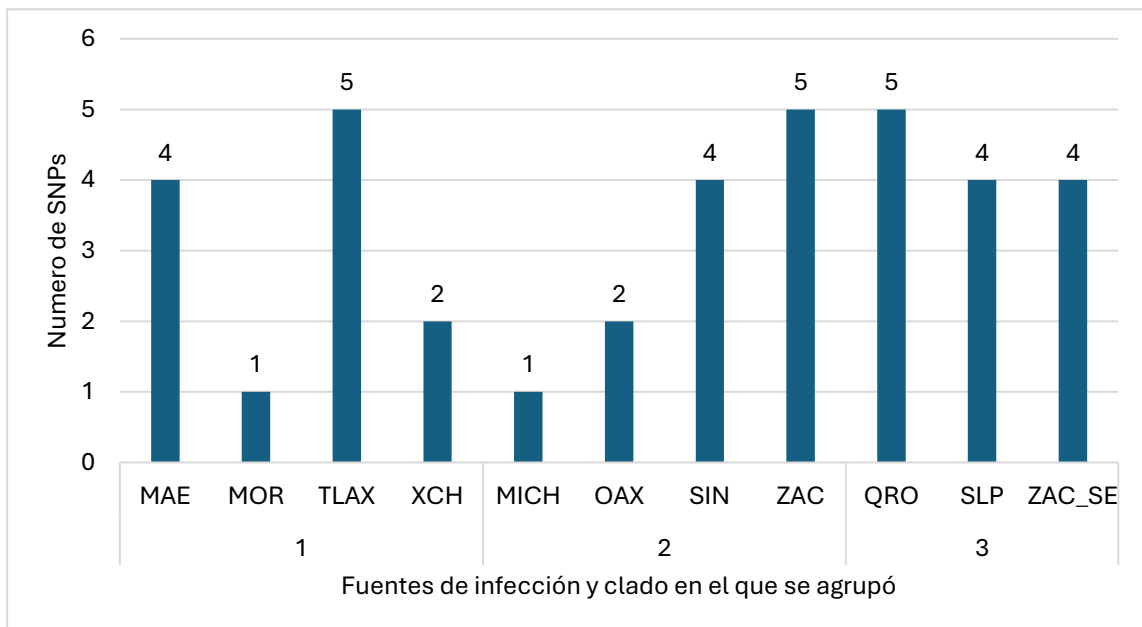


Figura 31. Acumulación de SNPs en las SPCE en el 26.5% del genoma viral analizado.

Por otro lado, la presencia de estos SNPs sugiere que las SPCE provenientes de las fuentes de infección colectadas en diferentes regiones de México y las SMR, podrían ser derivadas de la PSR, que representaría el ancestro en común y que se han adaptado a las circunstancias propias de la República Mexicana.

Hasta este punto de la investigación, tanto la variabilidad genética de las SPCE y su probable efecto en la expresión de proteínas ha sido caracterizada

parcialmente. La interacción de las fuentes de infección con los hospedantes se presenta a continuación.

4.4.2 Caracterización biológica de las fuentes de infección en estudio

Purificación de viriones

Como resultado del proceso de purificación de viriones, se obtuvo una suspensión blanquecina de extractos crudos donde estuvieron incluidos los viriones (**Figura 32**).

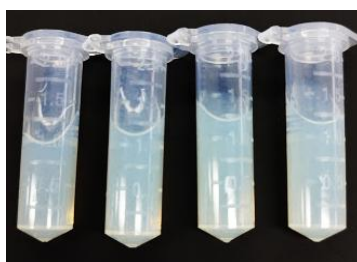


Figura 32. Suspensión de viriones obtenida.

Las concentraciones de proteína viral (viriones) obtenidas se muestran en el cuadro (**Cuadro 14**). Aunque las concentraciones fueron diversas, por ejemplo: TLAX con $\pm 100 \text{ mg.mL}^{-1}$ y ZAC_SE con $\pm 38 \text{ mg.mL}^{-1}$, no necesariamente implican la capacidad patogénica del virus, dado que la inoculación fue mecánica y por lo tanto la cantidad de viriones que desencadenaron la infección fue desconocida. Los rangos de los valores de absorbancia obtenidos (1.2) indicaron que los extractos tuvieron la suficiente pureza para su utilización posterior, ya que la pureza ideal es de 1.1 – 1.7 (Mosch et al., 1973). Es importante aclarar lo anterior, dado que el objetivo de esta purificación fue ajustar las concentraciones de partículas virales para su uso en inoculaciones posteriores sin interferencias de compuestos secundarios provenientes del tejido vegetal donador.

Cuadro 14. Concentraciones de proteínas (viriones) obtenidas al medir la absorbancia (260/280) de los extractos obtenidos de cada una de las fuentes de infección.

Muestra	Proteína (mg.mL⁻¹)	Absorbancia
MAE	62.568	1.24
MAE_R	62.653	1.24
MICH	74.478	1.23
MICH_R	74.966	1.23
MOR	83.971	1.22
MOR_R	83.46	1.22
OAX	51.73	1.22
OAX_R	50.705	1.22
QRO	65.082	1.22
QRO_R	65.293	1.22
SIN	94.643	1.21
SIN_R	96.326	1.21
SLP	80.263	1.22
SLP_R	121.695	1.23
TLAX	101.456	1.21
TLAX_R	100.787	1.22
XCH	54.05	1.21
XCH_R	62.002	1.23
ZAC	49.924	1.21
ZAC_R	51.137	1.21
ZAC_SE	39.472	1.23
ZAC_SE_R	37.408	1.23

Determinación de la cantidad de viriones a inocular

Como resultado de las tres concentraciones evaluadas, la concentración de 0.1 mg.mL⁻¹, las lesiones se mantuvieron separadas (**Figura 33a**). La concentración de 0.5 mg.mL⁻¹ generó lesiones necróticas separadas, que en raras ocasiones llegaron a calecer (**Figura 33b**). En la de 1.0 mg.mL⁻¹ ocasionó lesiones locales necróticas demasiado cercanas entre sí, lo que provocó que se unieran, causando el secado (**Figura 33c**). La concentración de 0.5 mg.mL⁻¹ se eligió como la más idónea para ser inculada en los ensayos biológicos posteriores de este estudio, dado que se buscó una infección controlada; además de que fue la más cercana a lo reportado previamente (Nourinejhad-Zarghani et al., 2022, 2024).

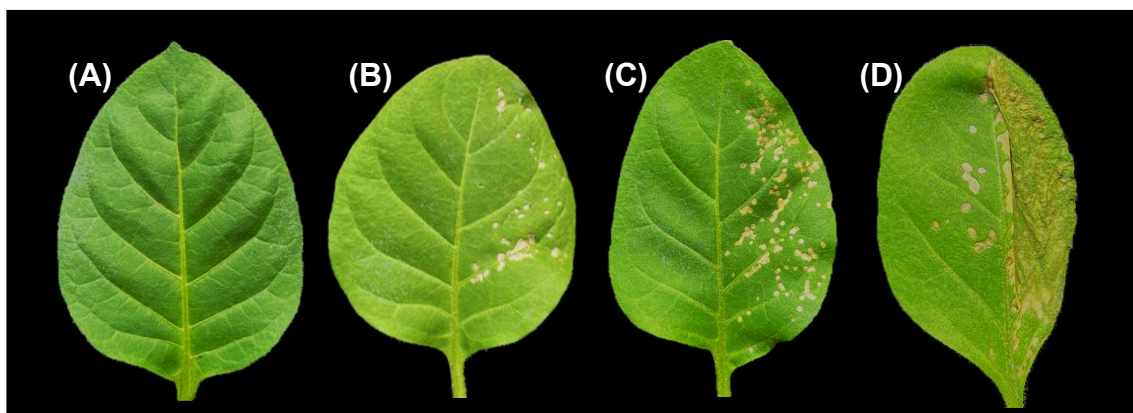


Figura 33. Lesiones necróticas obtenidas a partir de tres concentraciones virales. A) testigo; **B)** concentración de $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; **C)** concentración de $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; y **D)** concentración de $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Inoculación de plantas diferenciales

La respuesta de las plantas frente a la infección fue de dos tipos: lesiones locales y síntomas sistémicos. El primero correspondió a síntomas locales, los cuales se registraron entre 3 y 6 días después de la inoculación en las hojas inoculadas; mientras que el segundo correspondió a síntomas sistémicos, observados entre 10 y 30 días después de la inoculación.

Síntomas locales

C. amaranticolor, *D. stramonium*, *N. glutinosa* y *N. virginia* presentaron síntomas de lesiones locales cloróticas hasta necróticas en un periodo de tres a seis DPI frente a las 11 fuentes de infección (**Cuadro 15**); lo que indicó una reacción de hipersensibilidad debida a la activación de mecanismos de defensa y típica para tobamovirus en estas especies.

En *C. annuum*, nueve de las once fuentes de infección no indujeron síntomas locales, únicamente los aislamientos ZAC y MOR. Del mismo modo, *P. floridana* con MOR y *N. benthamiana*, donde únicamente el aislamiento ZAC_SE indujo el

síntoma. El comportamiento de *N. occidentalis* fue similar: solo MOR, TLAX y ZAC indujeron lesiones locales cloróticas.

El contraste ocurrió en *N. rustica*, nueve de las fuentes de infección reaccionaron con este síntoma y solo TLAX y SIN reacción. Del mismo modo, *S. melongena*, ocho con reacción y tres sin reacción (MOR, SLP y XCH). En *C. album* nueve con reacción y dos sin reacción (SLP y TLAX).

N. clevelandii y *S. lycopersicum* no desarrollaron síntomas locales evidentes.

La variabilidad observada en la expresión de síntomas locales sugirió diferencias en la interacción entre las fuentes de infección y las distintas plantas diferenciales. Estas respuestas podrían reflejar variaciones en la capacidad de las fuentes de infección para evadir (por ejemplo, la relación TLAX y SIN en *N. rustica*) o activar los mecanismos de defensa de las plantas (por ejemplo, ZAC y MOR en *C. annuum*), debido a modificaciones en su genoma. La expresión de este tipo de síntomas también puede ser debida a altas cargas virales, que podrían provocar que las células entren en estrés oxidativo y ocasionar la muerte celular aun sin que la planta posea genes de resistencia reportados (por ejemplo, MOR en *P. floridana*).

Cuadro 15. Síntomas locales inducidos por las diferentes fuentes de infección de *T. fructirugosum* en plantas indicadoras.

PLANTAS INDICADORAS	FUENTES DE INFECCIÓN											
	TEST	MOR	Clado 1			Clado 2				Clado 3		
			MAE	TLAX	XCH	MICH	OAX	SIN	ZAC	QRO	ZAC_SE	SLP
<i>Capsicum annuum</i>	NPS	LLN	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	LLN	NPS	NPS	NPS
<i>Chenopodium album</i>	NPS	LLC	LLC	NPS	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	NPS
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	NPS	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC
<i>Datura metel</i>	NPS	LLN	NPS	NPS	LLN	LLN	LLN	LLN	NPS	LLN	NPS	LLN
<i>Datura stramonium</i>	NPS	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN
<i>Nicotiana benthamiana</i>	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	LLC	NPS
<i>Nicotiana clevelandii</i>	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS
<i>Nicotiana glutinosa</i>	NPS	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN
<i>Nicotiana occidentalis</i>	NPS	LLC	NPS	LLC	NPS	NPS	LLC	NPS	LLC	NPS	NPS	NPS
<i>Nicotiana rustica</i>	NPS	LLC-LLN	LLC	NPS	LLC	LLC	LLC	NPS	LLC	LLC	LLC-LLN	LLC-LLN
<i>Nicotiana tabacum</i>	NPS	NPS	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC	LLC
<i>Nicotiana virginia</i>	NPS	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLC-LLN	LLN	LLN	LLN	LLC-LLN	LLN
<i>Physalis floridana</i>	NPS	LLN	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS
<i>Physalis philadelphica</i>	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	LLN	LLN	NPS	NPS	LLN	LLN
<i>Solanum lycopersicum</i>	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS
<i>Solanum melongena</i>	NPS	NPS	LLN	LLN	NPS	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	LLN	NPS

NPS: No presentó síntomas; LLN: Lesiones locales necróticas; LLC: Lesiones locales cloróticas; LLC-LLN: Lesiones locales cloróticas que evolucionaron a lesiones locales necróticas.

Síntomas sistémicos

Las plantas inoculadas con cada una de las once fuentes de infección tuvieron respuestas que incluyeron desde lo asintomático, clorosis, deformación y necrosis, en diferentes proporciones (**Cuadro 16**) (**Apéndice A, Figura 47 - 62**). En primer lugar, destacan *D. stramonium* y *S. melongena* en las que no se observaron síntomas tras la inoculación en el periodo evaluado (30 DPI) bajo las condiciones imperantes del estudio. La ausencia de síntomas en estas especies sugiere la presencia de mecanismos de defensa que podrían dar respuestas de tolerancia o resistencia limitando la multiplicación viral o su movimiento sistémico dentro de la planta, sin necesariamente desencadenar respuestas evidentes (Majumdar et al., 2023) bajo las condiciones de establecimiento de este ensayo.

Por otra parte, en *C. amaranticolor* solo cuatro (MOR, MICH, TLAX y MAE) provocaron lesiones cloróticas sistémicas y siete de las fuentes de infección no indujeron síntomas visibles. Este comportamiento de las fuentes de infección también se observó en *N. virginia*: deformación y moteado con QRO; lesiones necróticas sistémicas con ZAC; necrosis de nervaduras con XCH, SLP, MAE, TLAX y OAX; y ZAC_SE, SIN, MICH y MOR no generaron síntomas sistémicos visibles (**Cuadro 16**). Un comportamiento similar se presentó en las plantas de mayor importancia agrícola (*C. annuum* y *S. lycopersicum*) que, aunque el síntoma predominante fue el moteado, acompañado de ámpulas y deformación foliar; ZAC en *C. annuum* presentó necrosis de nervaduras y SLP en *S. lycopersicum*, jaspeado. Lo anterior evidencia la variabilidad patogénica de las fuentes de infección expresada en distintos niveles de agresividad, dado que todas las plantas inoculadas tuvieron las mismas condiciones de cultivo y solo varío la fuente de infección. Este fenómeno coincide con reportes previos en los que se propuso que diferentes fuentes de infección se pueden adaptar a diversos hospedantes (Gomaa & Garcia-Ruiz, 2025).

Lo anterior indicó que la respuesta de las plantas diferenciales ante la inoculación de las 11 fuentes de infección fue variable sin mostrar un agrupamiento. Y no se puede correlacionar con los clados formados en la reconstrucción filogenética ni con el número de sustituciones que presenta.

La ausencia o atenuación de síntomas sistémicos en hospedantes como *S. melongena* y, para ciertos aislados, *C. amaranticolor*, sugiere la presencia de resistencia parcial o tolerancia que limita la acumulación o la diseminación del virus. Esto refuerza la importancia de integrar los análisis biológicos y moleculares para comprender la variabilidad presente dentro de la población viral estudiada.

Cuadro 16. Síntomas sistémicos inducidos por las diferentes fuentes de infección de *T. fructirugosum* en plantas indicadoras.

PLANTAS INDICADORAS	TEST	Clado 1				Clado 2				Clado 3		
		MOR	MAE	TLAX	XCH	MICH	OAX	SIN	ZAC	QRO	ZAC_SE	SLP
<i>Capsicum annuum</i>	NPS	MOT	MOT, AMP	MOT	MOT	MOT	CS, MOT	MOT, CLO	NN	MOT	CS, MOT, AMP	MOT
<i>Chenopodium album</i>	NPS	MOT	DEF, MOT	DEF	MOT, DEF	AMP, DEF	MOT	MOT	DEF, MOT, AMP	MOT, DEF	MOT, AMP	MOT, JAS
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	NPS	LCS	LCS	LCS	NPS	LCS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS
<i>Datura metel</i>	NPS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>Datura stramonium</i>	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS
<i>Nicotiana benthamiana</i>	NPS	MOT, AMP	DEF, MOT	CLO, DEF	DEF, AMP	NS	CLO, AMP	DEF, CLO	NS	DEF	MOT, AMP	CLO, DEF
<i>Nicotiana clevelandii</i>	NPS	NS	DEF	NS	DEF	LCS, DEF	LCS, DEF	MOS, DEF	CLO, MOS	CLO, MOS	DEF,	DEF, MOS
<i>Nicotiana glutinosa</i>	NPS	NPS	DEF	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS
<i>Nicotiana occidentalis</i>	NPS	MOS, JAS, LNS	DEF, CLO	JAS, LNS	CLO, MOS, JAS	JAS, LNS	MOS, JAS, LNS	CLO, MOS, DEF	DEF, JAS	JAS, DEF, LNS	AMP, JAS	LNS, DEF, MOS
<i>Nicotiana rustica</i>	NPS	DEF, AMP	LNS, DEF	LNS, DEF	DEF, LNS	DEF, MOT	DEF	DEF, MOT	DEF, LNS	DEF, LNS	DEF, AMP	DEF
<i>Nicotiana tabacum</i>	NPS	LNS	MOS	MOS	MOT	MOS	MOS	MOT, JAS	MOS	MOT	MOS	MOT
<i>Nicotiana virginia</i>	NPS	NPS	NN	NN	NN	NPS	NN	NPS	LNS	DEF, MOT	NPS	NN
<i>Physalis floridana</i>	NPS	CAL	MOS	MOS, CAL	MOT	MOS, DEF	MOS	DEF, CAL	DEF, MOS	DEF, MOS	MOT, DEF, CAL	AMP, MOS
<i>Physalis philadelphica</i>	NPS	NPS	MOS	MOS	MOS	MOS	NPS	NPS	NPS	MOS	NPS	NPS
<i>Solanum lycopersicum</i>	NPS	DEF, MOT	DEF, MOT	MOT, DEF	DEF, MOT, AMP	AMP, DEF, MOT	MOT	DEF	AMP, MOT	MOT, DEF	AMP, DEF, MOT	DEF
<i>Solanum melongena</i>	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS	NPS

NPS: No presentó síntomas; CS: Clorosis sistémica; NS: Necrosis sistémica; MOT: Moteado; AMP: Ámpulas; DEF: Deformación; CAL: Cálico; MOS: Mosaico; JAS: Jaspeado; LCS: Lesiones cloróticas sistémicas; LNS: Lesiones necróticas sistémicas; NN: Necrosis de nervaduras; CLO: Clorosis.

En el cuadro 17 se resume el comportamiento de las 11 fuentes de infección con respecto a análisis filogenético, SNP detectados y síntomas locales y sistémicos. Donde se observa la ausencia de correlación entre los parámetros evaluados hasta este punto del estudio; sin embargo, siete de las fuentes de infección presentaron al menos una reacción diferente en alguna planta diferencial con respecto a los síntomas locales; mientras que SIN (JAS), ZAC (NN, LNS), QRO (DEF, MOT) y SLP (AMP) presentaron al menos una reacción distinta en los síntomas sistémicos. Es importante poner atención que estas fuentes de infección presentaron de cuatro a cinco SNP (**Cuadro 17**).

Cuadro 17. Comportamiento de las 11 fuentes de infección con respecto a análisis filogenético, SNP detectados y síntomas locales y sistémicos diferenciales en la planta que los presentó.

Filogenia		Polimorfismos (SNPs)		Síntomas
Clado	Fuente de infección	Cantidad	Síntomas locales	Síntomas sistémicos
1	MAE	4	SD*	SD
	TLAX	5	NPS/ <i>N. rustica</i>	SD
	XCH	2	NPS/ <i>S. melongena</i>	SD
	MOR	1	LLN/ <i>C. annuum</i> y <i>P. floridana</i> ; NPS/ <i>S. melongena</i>	SD
2	MICH	1	SD	SD
	OAX	2	SD	SD
	SIN	4	NPS/ <i>N. rustica</i>	JAS/ <i>N. tabacum</i> NN/ <i>C. annuum</i> , LNS/ <i>N. virginia</i>
	ZAC	5	LLN/ <i>C. annum</i>	
3	QRO	5	SD	DEF, MOT/ <i>N. virginia</i>
	ZAC_SE	4	LLC/ <i>N. benthamiana</i>	SD
	SLP	4	NPS/ <i>S. melongena</i>	AMP/ <i>P. floridana</i>

*Sin diferencias entre fuentes de infección;

A pesar de lo anterior, es difícil predecir una relación directa entre los clados-número de SNP-sintomatología. La estructura filogenética, solo refleja las relaciones evolutivas entre los aislamientos. Del mismo modo, los SNP identificados son insuficientes para declarar que están involucrados en la expresión de síntomas, porque solo se analizó el 26.5% del genoma; sin embargo, estudios más amplios han demostrado que la variabilidad de SNP a lo largo del genoma está asociada al comportamiento del virus en las plantas, como se demostró en la relación de este virus con cultivares de jitomate donde solo un SNP (MP: H67) rompió la resistencia que prevaleció durante más de 60 años (Hak et al., 2023).

En conjunto, estos resultados confirman la existencia de variabilidad genética, y aminoacídica en el fragmento del genoma (1,696 nucleótidos) analizado en este estudio. La inoculación de las 11 fuente de infección en diferentes hospedantes mostró diferente comportamiento expresado en síntomas (**Cuadro 17**); esta variación observada podría estar determinada por SNP específicos o por combinaciones de estos (Hak et al., 2023; S. Zhang et al., 2026).

Estos resultados indicaron que las 11 fuentes de infección tienen comportamientos moleculares y sintomáticos diversos, por lo que fueron insuficientes para discriminar entre ellos y así elegir las candidatas para continuar el estudio. Otro ensayo enfocado al mismo objetivo fue la determinación de su comportamiento a nivel de carga viral en tres especies de solanáceas de importancia en investigación (*N. occidentalis*) y económica (*S. lycopersicum* y *C. annuum*).

4.4.3 Evaluación de las fuentes de infección en diferentes hospedantes mediante RT-qPCR

Evaluación en *S. lycopersicum*

En la evaluación de las 11 fuentes de infección en tomate (*S. lycopersicum*) (**Cuadro 18**), el control positivo presentó un valor de Ct = 12.75, lo que confirmó funcionamiento de la reacción; de manera paralela, el control negativo mostró una amplificación tardía (Ct = 32.22) y el NTC un valor de 33.02, ambos cercanos al

límite de detección de lo establecido por la autoridad fitosanitaria (CNRF, 2022). Este resultado podría explicarse por amplificaciones inespecíficas o degradación de la sonda fluorogénica.

Cuadro 18. Comparación de valores de Ct en *S. lycopersicum*, *C. annuum* y *N. occidentalis*, para distintas fuentes de infección.

Clado	Muestra	Ciclo threshold (Ct)		
		<i>S. lycopersicum</i>	<i>C. annuum</i>	<i>N. occidentalis</i>
	Control Positivo	12.75	9.75	10.85
1	MOR	15.99	26.68	16.96
	MAE	22.68	14.39	20.43
	TLAX	16.38	30.01	21.38
	XCH	14.33	18.2	19.56
	MICH	17.38	14.04	16.66
2	OAX	15.77	13.55	20.01
	SIN	16.07	14.61	15.1
	ZAC	16.44	13.9	19.49
	QRO	15.46	13.38	15.26
3	ZAC_SE	13.37	31.3	17.73
	SLP	18.07	30.4	20.71
	NTC*	33.02	33.49	33.95
	Control Negativo	32.22	N/A**	N/A

* No Template Control: reacción que contiene todos los componentes de la qPCR, excepto el cDNA molde.

** No amplificó.

Todas las fuentes de infección evaluadas presentaron amplificación antes del control negativo, del NTC y antes del ciclo 32 (umbral establecido como límite), lo que confirma la presencia del virus en las plantas de tomate inoculadas. Sin embargo, se observaron diferencias en los valores de Ct entre las distintas fuentes de infección, lo que indica variaciones en las cantidades relativas del ácido nucleico viral y por lo tanto el nivel de infección en este hospedero.

Las fuentes de infección ZAC_SE y XCH presentaron los valores de Ct más bajos (13.37 y 14.33, respectivamente), lo que indicó que son las fuentes de infección que alcanzaron mayor concentración viral en los tejidos vegetales analizados. De manera similar, las fuentes QRO, OAX, MOR, SIN, TLAX y ZAC mostraron valores de Ct entre 15.46 y 16.44, evidenciando niveles elevados de replicación y

transcripción del genoma viral. Por otro lado, las fuentes MICH y SLP presentaron valores mayores (17.38 y 18.07), lo que sugiere actividad viral menor. En contraste, la fuente MAE mostró el valor de Ct más alto (22.68), evidenciando la más baja actividad viral en comparación con las demás muestras.

Estos resultados, aunados a los datos obtenidos en este estudio con respecto al análisis filogenético (**Figura 29**), la caracterización de SNPs (**Cuadro 13**) y el comportamiento en otros hospedantes (**Cuadro 17**) revelaron que las fuentes de infección tuvieron Ct heterogéneos en este hospedante, relacionados probablemente al nivel de replicación y transcripción del genoma del virus.

Evaluación en *C. annuum*

En *C. annuum* las fuentes QRO (13.38), OAX (13.55), ZAC (13.9), MICH (14.04), MAE (14.39) y SIN (14.61) presentaron los valores de Ct más bajos, indicando una alta concentración del ácido nucleico viral en el tejido analizado. De manera similar, la fuente XCH mostró un valor Ct de 18.2, lo que lo relaciona con el grupo anterior; en contraste, las fuentes MOR, TLAX, SLP y ZAC_SE presentaron valores de Ct más altos (26.68, 30.01, 30.4 y 31.3, respectivamente), lo que indicó una menor concentración de ácido nucleico viral y, por lo tanto, menor tasa de replicación y transcripción.

Es importante resaltar que, en este hospedante, hay una correspondencia del agrupamiento mediante el análisis filogenético (**Figura 29**, Clado 2) que incluye las fuentes de infección: MICH, OAX, SIN y ZAC, que presentaron Ct cercanos (13.5 – 14.6) (**Cuadro 18**); lo anterior reveló que estas fuentes de infección tienen un comportamiento similar en su interacción con las células del hospedante al apoderarse de los precursores en las rutas metabólicas de los ácidos nucleicos. Además, es de señalar que la mayoría de los SNPs detectados en este clado filogenético se ubicaron en la secuencia que codifica para la MP.

Evaluación en *N. occidentalis*

En *N. occidentalis* todas las muestras de cDNA analizadas provenientes de las fuentes de infección presentaron amplificación antes del NTC (**Cuadro 18**), lo que confirmó la presencia de las secuencias blanco. Sin embargo, se observaron diferencias en los valores de Ct entre ellas (en un rango de 15.1 - 21.38), lo que indicó variaciones en la concentración de la secuencia blanco y por ende de los ácidos nucleicos virales en el hospedero: la fuente de infección SIN (15.1) presentó el valor más bajo y TLAX (21.38) el valor más alto.

Este rango tan estrecho presentado en las muestras obtenidas de este hospedante inoculado con las fuentes de infección en estudio, no permite una separación consistente y por lo tanto una correlación con las variables previamente evaluadas: análisis filogenético (**Figura 29**), la caracterización de SNPs (**Figura 31**) y el comportamiento en otros hospedantes (**Cuadro 17**). Por otro lado, y contrastando lo que ocurrió en las muestras de *S. lycopersicum*, donde a pesar de que el rango de Ct fue similar (13.37 - 22.68) si permitió una correlación. En contraste con *C. annuum*, donde a pesar de que se obtuvo un rango amplio de Ct (13.38 - 31.3) no se encontró una correlación con los parámetros previamente estudiados; sin embargo, se evidenció la agrupación de los Ct que amplificaron del 13 al 18 (QRO, OAX, ZAC, MICH, MAE, SIN y XCH) y los que amplificaron del 26 al 31 (MOR, TLAX, SLP y ZAC_SE).

Las variaciones en los Ct podrían estar relacionadas con diferencias en la capacidad replicativa de los aislados virales o con la interacción específica entre cada fuente de infección y el hospedero. Asimismo, la variabilidad en la acumulación viral podría reflejar diferencias genéticas previamente observadas entre las fuentes de infección, lo que podría influir en su comportamiento biológico en este hospedante.

4.5 CONCLUSIONES

Las 11 fuentes de infección analizadas se agruparon en clados filogenéticos diferenciados. Las secuencias analizadas del ORF que codifica para la MP

concentraron el mayor porcentaje de variabilidad genética, probablemente debida a procesos de diversificación intraespecífica que podrían conducir a una adaptación local.

Las regiones parciales amplificadas y secuenciadas de los ORFs que codifican para RdRp, MP y CP mostraron variación nucleotídica detectable mediante SNPs sinónimos y no sinónimos en dominios funcionales, lo que podría tener un impacto en procesos clave como la replicación, transcripción, movimiento célula a célula, encapsidación, la estabilidad del virus y la respuesta a la defensa celular. Este es el primer estudio en México que propone una alternativa a la secuenciación de genoma completo.

Las plantas diferenciales inoculadas difirieron en la respuesta frente a las fuentes de infección mostrando diferentes niveles de incidencia-severidad: desde ausencia en la expresión de síntomas, hipersensibilidad, hasta expresiones sistémicas, lo que indicó diferente comportamiento aun entre fuentes de infección genéticamente cercanas agrupados en el análisis filogenético. Este estudio se sitúa como el primero donde se realizó una caracterización biológica completa de este virus a partir de viriones purificados y concentraciones estándares.

Las infecciones sucesivas inducen mutación en el genoma del virus. Esto se demostró con las fuentes de infección MAE-MICH ya que MICH se ubicó en un clado diferente y se comportó biológicamente diferente a MAE, aun cuando el origen de MICH fue MAE.

De manera general, la cuantificación indirecta de la carga del ácido nucleico viral en *S. lycopersicum*, *N. occidentalis* y *C. annuum*, dada por los Ct en RT-qPCR, mostró patrones de acumulación de fluorescencia distintos entre fuentes de infección y hospedantes, sugiriendo interacciones específicas hospedero–aislamiento. Este es el primer estudio donde se evaluaron, mediante RT-qPCR, diversas fuentes de infección en hospedantes de importancia económica y, además, partiendo de concentraciones específicas de viriones purificados.

Este es el primer estudio en donde se reporta la concentración idónea para desencadenar una infección sistémica [0.5 mg.mL⁻¹].

En conjunto, las evidencias moleculares y biológicas demostraron que las fuentes de infección mexicanas de *T. fructirugosum* en estudio, tuvieron un comportamiento heterogéneo dependiente de la interacción con los hospedantes y probablemente influenciado por modificaciones en el genoma del virus. Situando a esta investigación como la pionera en este aspecto.

Estas características moleculares y biológicas heterogéneas impidieron la discriminación precisa de las fuentes de infección analizadas, por lo que se decidió utilizar todas para evaluar su interacción con diferentes variedades de *S. melongena*.

4.6 REFERENCIAS

- Abrahamian, P., Cai, W., Nunziata, S. O., Ling, K.-S., Jaiswal, N., Mavrodieva, V. A., Rivera, Y., & Nakhla, M. K. (2022). Comparative Analysis of Tomato Brown Rugose Fruit Virus Isolates Shows Limited Genetic Diversity. *Viruses*, 14(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/v14122816>
- Alcala, R., Silva, L., Vargas, P., & Salas, D. (2022, septiembre 25). *Tomato brown rugose fruit virus isolate Mex2_26r, partial genome—Nucleotide—NCBI*. NCBI. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/OK339579.1?report=genbank&log\\$=nuclalign&blast_rank=1&RID=W13S5EGU014](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/OK339579.1?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=1&RID=W13S5EGU014)
- Ávila-Alistac, N., Mora-Aguilera, G., Lozoya-Saldaña, H., Zamora, E. J. Z.-M., & Hernández-Juárez, C. (2024). Genetic variability of two Mexican Tomato brown rugose fruit virus isolates and expression of symptoms in tomato and pepper. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 1–12. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2311-2>
- Avni, B., Gelbart, D., Sufrin-Ringwald, T., Zemach, H., Belausov, E., Kamenetsky-Goldstein, R., & Lapidot, M. (2022). ToBRFV Infects the Reproductive Tissues of Tomato Plants but Is Not Transmitted to the Progenies by Pollination. *Cells*, 11(18), Article 18. <https://doi.org/10.3390/cells11182864>
- Camacho-Beltrán, E., Pérez-Villarreal, A., Leyva-López, N. E., Rodríguez-Negrete, E. A., Cenicerros-Ojeda, E. A., & Méndez-Lozano, J. (2019). Occurrence of *Tomato brown rugose fruit virus* Infecting Tomato Crops in Mexico. *Plant Disease*, 103(6), 1440–1440. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-1974-PDN>
- CNRF, C. N. D. R. F. (2022). *Protocolo de Diagnóstico: Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) (Virus del fruto rugoso marrón del tomate)*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/793315/Protocolo_ToBRFV.pdf

- De Koning, P. P. M., Fowkes, A. R., Zisi, Z., Beris, D., Oplaat, C., McGreig, S., Skelton, A., Adams, I. P., Van Gemert, J., De Krom, C., Visser, M., Westenberg, M., Van De Vossen, B. T. L. H., Varveri, C., Roenhorst, J. W., Schenk, M., Matthijnsens, J., Fox, A., & Botermans, M. (2025). Tomato Brown Rugose Fruit Virus Nextstrain Build Version 4: Pathways of Introduction and Local Spread. *PhytoFrontiers™*, 5(1), 105–111. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-05-24-0049-A>
- Dijkstra, J., & De Jager, C. P. (1998). *Practical Plant Virology*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-72030-7>
- EPPO. (2022a). PM 7/146 (2) Tomato brown rugose fruit virus. *EPPO Bulletin*, 52(3), 665–692. <https://doi.org/10.1111/epp.12891>
- EPPO. (2022b). PM 7/153 (1) Mechanical inoculation of test plants. *EPPO Bulletin*, 52(3), 693–703. <https://doi.org/10.1111/epp.12901>
- Ghorbani, A. (2024). Genetic analysis of tomato brown rugose fruit virus reveals evolutionary adaptation and codon usage bias patterns. *Scientific Reports*, 14(1), 21281. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72298-y>
- Gomaa, A. E., & Garcia-Ruiz, H. (2025). Genome-Wide Variation Profile of the Genus Tobamovirus. *Viruses*, 17(9), 1284. <https://doi.org/10.3390/v17091284>
- Gutierrez, U. V., Treviño, G. A. F., López López, H., Delgado Ortiz, J. C., Aguirre Uribe, L. A., & Flores Olivas, A. (2024). Evaluación de la Patogenicidad de Tres Aislados del virus de la fruta rugosa marrón del tomate en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de Coahuila, México: Respuesta patogénica del ToBRFV. *Revista Bio Ciencias*. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1576>
- Hak, H., Raanan, H., Schwarz, S., Sherman, Y., Dinesh-Kumar, S. P., & Spiegelman, Z. (2023). Activation of *Tm-2²* resistance is mediated by a conserved cysteine

- essential for tobacco mosaic virus movement. *Molecular Plant Pathology*, 24(8), 838–848. <https://doi.org/10.1111/mpp.13318>
- Huelsenbeck, J. P., Ronquist, F., Nielsen, R., & Bollback, J. P. (2001). Bayesian Inference of Phylogeny and Its Impact on Evolutionary Biology. *Science*, 294(5550), 2310–2314. <https://doi.org/10.1126/science.1065889>
- ISHI-Veg. (2019). *Detection of Infectious Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in Tomato and Pepper Seed*. https://worldseed.org/wp-content/uploads/2019/09/Tomato-ToBRFV_2019.09.pdf
- Karlen, Y., McNair, A., Perseguers, S., Mazza, C., & Mermoud, N. (2007). Statistical significance of quantitative PCR. *BMC Bioinformatics*, 8(1), 131. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-131>
- Kleczkowski, A. (1950). Interpreting Relationships between the Concentrations of Plant Viruses and Numbers of Local Lesions. *Journal of General Microbiology*, 4(1), 53–69. <https://doi.org/10.1099/00221287-4-1-53>
- Lehninger, A. L. (2009). *Principios de bioquímica*. Barcelona: Omega. <http://archive.org/details/principiosdebioq0000lehn>
- Luria, N., Smith, E., Reingold, V., Bekelman, I., Lapidot, M., Levin, I., Elad, N., Tam, Y., Sela, N., Abu-Ras, A., Ezra, N., Haberman, A., Yitzhak, L., Lachman, O., & Dombrovsky, A. (2017). A New Israeli Tobamovirus Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-22 Resistance Genes. *PLOS ONE*, 12(1), e0170429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170429>
- Ma, H., Liu, Y., Huan, X., Liu, S., Mu, X., Zhang, L., Bao, Z., Tian, Y., Yan, Z., & Li, X. (2026). Tomato Brown Rugose Fruit Virus Evades Tm-2² -Mediated Resistance by Avoiding the Induction of Tm-2² Self-Association. *Molecular Plant Pathology*, 27(3), e70243. <https://doi.org/10.1111/mpp.70243>
- Miranda, C., O. A., Ramirez, S., M., Cruz-Jaramillo, J. L., Tovar-Pedraza, J. M., & Diaz-Lara, A. (2023, julio 4). *Tomato brown rugose fruit virus isolate*

PEPQRO, *partial genome*—*Nucleotide*—*NCBI*. NCBI.
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/OQ427353.1?report=genbank&log\\$=nuclalign&blast_rank=1&RID=W13S5EGU014](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/OQ427353.1?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=1&RID=W13S5EGU014)

Molad, O., Leibman, D., Luria, N., Sela, N., Smith, E., Lachman, O., Reches, M., & Dombrovsky, A. (2025). Tomato Brown Rugose Fruit Virus Isolate Containing A134T Amino Acid Substitution in the Movement Protein Enhanced Symptom Severity in Tomato Plants. *Plant Disease*, 109(9), 1901–1912.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-07-24-1533-RE>

Mosch, W. H. M., Huttinga, H., & Rast, A. Th. B. (1973). Some chemical and physical properties of 18 tobacco mosaic virus isolates from tomato. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 79(3), 104–111.
<https://doi.org/10.1007/BF01976684>

Nourinejhad-Zarghani, S., Monavari, M., Ehlers, J., Hamacher, J., Büttner, C., & Bandte, M. (2022). Comparison of Models for Quantification of Tomato Brown Rugose Fruit Virus Based on a Bioassay Using a Local Lesion Host. *Plants*, 11(24), 3443. <https://doi.org/10.3390/plants11243443>

Nourinejhad-Zarghani, S., Monavari, M., Nourinejhad Zarghani, A., Nouri, S., Ehlers, J., Hamacher, J., Bandte, M., & Büttner, C. (2024). Quantifying Plant Viruses: Evolution from Bioassay to Infectivity Dilution Curves along the Model of Tobamoviruses. *Viruses*, 16(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/v16030440>

Ortiz, M., L. E., Ochoa-Martínez, D. L., Rojas-Martínez, R. I., Aranda-Ocampo, S., & Ortega, A., C. (2021, octubre 25). *Tomato brown rugose fruit virus isolate TBRFV-MX-CP*, *complete genome*—*Nucleotide*—*NCBI*. NCBI.
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW349655.1?report=genbank&log\\$=nuclalign&blast_rank=1&RID=W13S5EGU014](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW349655.1?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=1&RID=W13S5EGU014)

Rodríguez-Mendoza, J., García-Ávila, C. D. J., López-Buenfil, J. A., Araujo-Ruiz, K., Quezada-Salinas, A., Cambrón-Crisantos, J. M., & Ochoa-Martínez, D. L. (2019). Identificación de Tomato brown rugose fruit virus por RT-PCR de una

- región codificante de la replicasa (RdRP). *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 37(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1902-6>
- Salem, N. M., Mansour, A., Ciuffo, M., Falk, B. W., & Turina, M. (2016). A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. *Archives of Virology*, 161(2), 503–506. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2677-7>
- SENASICA. (2019, enero). *Protocolo de Diagnóstico: Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) (Virus del fruto marrón rugoso del tomate)*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/723702/25._Protocolo_ToBRFV_V.2_PUB.pdf
- SENASICA. (2020). *Panorama Nacional del Virus del fruto rugoso café del Tomate (ToBRFV)* (p. 9) [Análisis Estratégico de Riesgos Sanitarios]. AGRICULTURA. https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2020/abril/PANToBRFV_bc6c0958-dc49-4fb5-ac21-355322898f15.pdf
- Spiegelman, Z., & Dinesh-Kumar, S. P. (2023). Breaking Boundaries: The Perpetual Interplay Between Tobamoviruses and Plant Immunity. *Annual Review of Virology*, 10(1), 455–476. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-111821-122847>
- van de Vossenberg, B. T. L. H., Visser, M., Bruinsma, M., Koenraadt, H. M. S., Westenberg, M., & Botermans, M. (2020). Real-time tracking of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) outbreaks in the Netherlands using Nextstrain. *PLoS ONE*, 15(10), e0234671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234671>
- Weiss, D., Sede, A. R., Levanova, A. A., Leibman-Markus, M., Gupta, R., Mishra, R., Hak, H., Bar, M., Poranen, M. M., Heinlein, M., & Spiegelman, Z. (2026). Control of tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in tomato plants using *in vivo* synthesized dsRNA. *Journal of Experimental Botany*, 77(3), 865–879. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraf293>

- Zhang, S., Griffiths, J. S., Marchand, G., Bernards, M. A., & Wang, A. (2022). *Tomato brown rugose fruit virus*: An emerging and rapidly spreading plant RNA virus that threatens tomato production worldwide. *Molecular Plant Pathology*, 23(9), 1262–1277. <https://doi.org/10.1111/mpp.13229>
- Zhang, S., Li, Y., Weselowski, B., Griffiths, J. S., Hao, X., McCreary, C. M., Bernards, M. A., & Wang, A. (2026). Single Amino Acid Change at Two Conserved Residues in Tomato Brown Rugose Fruit Virus Coat Protein Compromises Virion Assembly and Viral Systemic Infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 39(1), 31–44. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-25-0095-R>
- Zhang, W., Qiu, Y., Zhou, L., Yin, J., Wang, L., Zhi, H., & Xu, K. (2021). Development of a Viral RdRp-Assisted Gene Silencing System and Its Application in the Identification of Host Factors of Plant (+)RNA Virus. *Frontiers in Microbiology*, 12, 682921. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.682921>
- Zheng, X., Li, Y., & Liu, Y. (2024). Plant Immunity against Tobamoviruses. *Viruses*, 16(4), 530. <https://doi.org/10.3390/v16040530>

CAPÍTULO 5. RESPUESTA DE *Solanum melongena* L. ANTE DIVERSAS FUENTES DE INFECCIÓN DE *Tobamovirus fructirugosum* BAJO INVERNADERO

5.1 RESUMEN

La berenjena (*Solanum melongena*) es una hortaliza de importancia económica y nutricional mundial, con bajo contenido calórico, gran aporte de compuestos antioxidantes y creciente relevancia en sistemas hortícolas intensivos y de exportación. En cuanto a su susceptibilidad a *Tobamovirus fructirugosum*, existe controversia al respecto; ya que algunos estudios indican que no es susceptible, mientras que otros han documentado infecciones positivas. Con base en estas discrepancias, se establecieron tres ensayos en invernadero para evaluar el efecto de diferentes fuentes de infección de *T. fructirugosum* mexicanas sobre cinco variedades de *S. melongena*. La infección se confirmó mediante RT-qPCR a los 25 días después de la inoculación, al igual que los síntomas, y tres meses después se determinó la biomasa seca de las plantas. Los datos de biomasa seca se analizaron mediante análisis de varianza y comparaciones múltiples de medias. En el primer ensayo, bajo temperaturas máximas promedio cercanas a 25 °C, ninguna de las plantas inoculadas superó el umbral de detección establecido por la autoridad fitosanitaria. En los ensayos posteriores, realizados en temperaturas mayores, las proporciones de incidencia oscilaron entre el 75% y el 100%, lo que se atribuyó a una reducción en la eficacia de los mecanismos de resistencia bajo condiciones de alta temperatura; los valores de Ct evidenciaron diferencias tanto entre fuentes de infección como entre variedades, sugiriendo distintos grados de interacción planta-patógeno. La expresión de síntomas fue consistente con los patrones de carga viral, variando desde plantas asintomáticas con Ct elevados hasta plantas con amarillamiento, moteado y lesiones necróticas asociadas a Ct bajos. La evaluación de biomasa seca evidenció variabilidad dependiente de la fuente de infección, la variedad evaluada así como la interacción de estas. En conjunto, estos resultados indicaron que *T. fructirugosum* tiene la capacidad de infectar a *S. melongena* y que

el impacto de la infección estuvo modulado por la interacción fuente de infección-variedad y que las condiciones de temperatura pueden influir en la patogénesis.

Palabras clave: *Solanum melongena*, *Tobamovirus fructirugosum*, síntomas, variedades y condiciones ambientales.

5.2 INTRODUCCIÓN

La berenjena (*Solanum melongena*) es la tercera hortaliza solanácea de mayor importancia económica, solo superada por *S. tuberosum* y *S. lycopersicum* (FAOSTAT, 2026). Es originaria del subcontinente indio y con una larga historia de cultivo en Asia y el Mediterráneo (Page et al., 2019). Este cultivo se produce principalmente en sistemas hortícolas intensivos bajo invernadero y a cielo abierto, con una superficie de cultivo en expansión tanto a nivel nacional como internacional (FAOSTAT, 2026). Su fruto es apreciado por su bajo contenido calórico, aporte de fibra dietética, compuestos fenólicos con actividad antioxidante y versatilidad culinaria, lo que lo posiciona como un componente relevante en dietas de diversas culturas (Gürbüz et al., 2018). A nivel global, el principal país productor es China con una superficie cultivada de 813,704.00 ha (FAOSTAT, 2026). En México, el estado de Sinaloa concentra la mayor superficie productiva de este cultivo (DGSIAP, 2025). En este estado el cultivo de *S. melongena*, por sus requerimientos agroecológicos, comparte nicho productivo, prácticas de manejo y cadenas de distribución comercial con otros hospedantes solanáceos de *T. fructirugosum* de importancia agrícola, entre ellos tomate (*S. lycopersicum*) y pimiento (*C. annuum*). En este contexto, determinar si *S. melongena* forma parte del rango de hospedantes susceptibles de *T. fructirugosum* es una cuestión de relevancia epidemiológica. En estudios previos la evidencia publicada es contradictoria: varios estudios han reportado que esta especie no es susceptible al virus (Chanda et al., 2021; Luria et al., 2017; Panno et al., 2019); por otro lado, otros trabajos han documentado infecciones positivas en este cultivo (Kubota et al., 2023; Matsushita et al., 2024; Yan et al., 2021; Zamora et al., 2025). Esta falta de consistencia entre estudios podría estar relacionada con diferencias en el genotipo de las variedades evaluadas, las fuentes de infección empleadas y, muy probablemente, con las condiciones ambientales imperantes

durante los bioensayos, dado que se ha demostrado para otros tobamovirus que las respuestas de resistencia mediadas por genes de la familia NB-LRR son funcionales únicamente por debajo de determinados umbrales térmicos; en específico, el gen *N* en *N. xanthi-nc* condiciona la resistencia frente a *T. tabaci* solo por debajo de los 28 °C, ya que a temperaturas superiores queda reprimida tanto la respuesta hipersensible como la restricción de la infección (Király et al., 2008; Zheng et al., 2024; Zhou et al., 2025).

En *S. melongena*, no se ha identificado hasta la fecha la presencia de genes que otorguen resistencia específica contra los tobamovirus. Sin embargo, debido a su estrecha relación filogenética con otras especies de solanáceas donde sí se han descrito genes de resistencia, es razonable suponer que *S. melongena* podría contar con genes ortólogos a los que confieren resistencia como en *S. lycopersicum* (*Tm-1*, *Tm-2^a*), *C. annuum* (*L1*, *L2*, *L3*, *L4*), tabaco (*N*) (Király et al., 2008; Zheng et al., 2024) y otras plantas del género *Solanum* (Topcu et al., 2025).

La determinación de la respuesta de *S. melongena* frente a *T. fructirugosum* es fundamental para conocer su papel en la epidemiología del virus. Esta respuesta podría estar mediada por una interacción específica hospedero-patógeno. En la que la respuesta podría estar dada por el fondo genético representado por variedades y en el caso del patógeno por las cuasiespecies, todo ello influenciado por las condiciones ambientales. Por lo anterior, destaca la importancia de evaluar diferentes variedades de *S. melongena* frente a diversas fuentes de infección de *T. fructirugosum*, especialmente aquellas con variabilidad genómica confirmada. En este estudio se analizaron simultáneamente la respuesta de este cultivo mediante la expresión de síntomas, la dinámica de acumulación viral por RT-qPCR y el impacto en la biomasa seca total, con el fin de comprender su papel potencial en la epidemiología de *T. fructirugosum* y caracterizar el patosistema.

5.3 MATERIALES Y METODOS

5.3.1 Lugar de experimentación

Los experimentos se llevaron a cabo en el invernadero de virología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

5.3.2 Material biológico

Variedades utilizadas

Las variedades de *Solanum melongena* fueron: Larga Blanca (V1), Black Beauty (V2), Asiática (V3), Larga Violeta (V4) y Listada de Gandía (V5) obtenidas de la comercializadora de semillas Huerto ASPIC.

Fuentes de infección

En el primer ensayo se utilizaron 11 (**Cuadro 7**) fuentes de infección que fueron seleccionadas a partir de la identificación por RT-PCR del ORF que codifica para la RdRp (**Capítulo 3**). En el segundo ensayo se utilizaron 10 fuentes de infección previamente caracterizadas, molecular y biológicamente en el **Capítulo 4**; la discriminación de una fuente de infección (MICH) fue basada en que su origen fue MAE (MICH proviene de inoculaciones sucesivas a partir de MAE).

En el tercer ensayo se utilizaron 5 fuentes de infección (MAE, MOR, SIN, SLP y TLAX) esta elección estuvo basada en el comportamiento que tuvieron en la caracterización molecular y biológica (**Figura 29, Cuadro 15 y Cuadro 16**).

5.3.3 Establecimiento de plantas

Preparación del sustrato

El sustrato para el establecimiento de los semilleros fue peat moss esterilizado en autoclave por 4 horas a 121 °C (15 lb.plg⁻¹), mientras que el sustrato utilizado en el trasplante fue una mezcla 1:1:1 de tierra de monte, peat moss y vermiculita, previamente tratada mediante vapor durante cinco horas.

Establecimiento de semilleros y trasplante

Las semillas se germinaron en charolas de 200 cavidades. Una vez que las plántulas desarrollaron dos hojas verdaderas, se trasplantaron de manera individual a bolsas de polietileno color negro de 5 L.

Mantenimiento de plantas

Durante cada ciclo experimental, las plantas recibieron solución nutritiva Steiner al 50% cada ocho días. El riego se realizó con agua filtrada (Filtro: Hydro-Pur Ultra, cat. No. PST-02); de forma paralela, se monitoreó diariamente la temperatura máxima y mínima mediante un datalogger (Elitech, Cat. No. GSP-6Pro), con el fin de registrar las condiciones ambientales predominantes en el invernadero. La presencia de organismos plaga se monitoreó con trampas amarillas y al momento del riego. La presencia de plagas fue controlada mediante productos comerciales (Confidor® 350 SC i. a. Imidacloprid)

5.3.4 Inoculación de las fuentes de infección

Las plantas fueron inoculadas cuando presentaron entre cuatro y cinco hojas verdaderas. La inoculación se realizó por infiltración en el envés de la hoja, utilizando una aguja de insulina. La cantidad y concentración de inóculo fueron las previamente establecidas (capítulo 3, punto 4.4.2).

5.3.5 Establecimiento de los ensayos

El diseño experimental empleado fue parcelas divididas (split-plot), donde el factor principal correspondió a la fuente de infección y el subfactor a la variedad evaluada. Cada unidad experimental consistió en una planta. El experimento se repitió en tres épocas diferentes (**Cuadro 19**) con el fin de corroborar el comportamiento del virus con *S. melongena*.

Cuadro 19. Fechas de inicio y termino de los bioensayos.

Repetición	Fecha de inicio	Fecha de termino
Primera	01/08/2024	30/08/2024
Segunda	13/03/2025	15/06/2025
Tercera	03/07/2025	03/11/2025

5.3.6 Determinación de la infección

El establecimiento de la infección viral se evaluó 25 DPI. Para esto, se colectaron muestras foliares de cada unidad experimental. El análisis por RT-qPCR consistió en la extracción de RNA total, síntesis de cDNA y la amplificación y cuantificación por qPCR (Puntos 3.3.2 , 3.3.4 y 4.3.3 respectivamente). Las hojas infiltradas se marcaron con un anillo de papel plastificado, con el fin de monitorear la respuesta local.

5.3.7 Evaluación de la sintomatología

La sintomatología fue registrada a partir de los 25 DPI mediante cámara fotográfica integrada a smartphone (Xiaomi Redmi Note 10 Pro). Para conservar la uniformidad de las fotografías, las hojas sintomáticas se colocaron sobre un fondo negro y así evidenciar el contraste de los síntomas. Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante la aplicación de ajustes globales de brillo y contraste (+20% en ambos parámetros), aplicados de manera uniforme a todas las fotografías, con el objetivo de estandarizar su presentación sin alterar la interpretación de los síntomas observados.

5.3.8 Evaluación de la biomasa

La biomasa seca es un indicador del efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de las plantas y, de manera indirecta, del impacto de la infección viral (Hull, 2013; Pérez-Moreno et al., 2008). Para la evaluación de este parámetro, tres meses después de la inoculación, las plantas se extrajeron cuidadosamente eliminando el sustrato adherido a las raíces con la ayuda de agua corriente. Posteriormente, el material vegetal se colocó en condiciones de invernadero para secado.

Una vez alcanzado el peso constante, la biomasa seca se determinó utilizando una balanza de precisión (OHAUS Scout Pro, Cat. No. SPU402). Los datos del peso generados se registraron en hojas de cálculo de Microsoft Excel.

Análisis preliminar de promedios

Los datos de biomasa seca se capturaron en una hoja de cálculo y a partir de ella se realizaron análisis para relacionar los promedios de biomasa-fuentes de infección y relación de biomasa-variedad; utilizando la herramienta “Tablas dinámicas” incluida en el software Excel. Posteriormente y con el fin de corroborar este análisis se realizó la estadística rigurosa.

Análisis estadístico

Los datos de biomasa capturados se analizaron con el software SAS (Statistical Analysis System) (SAS OnDemand for Academics) empleando análisis de varianza (ANOVA) según el diseño factorial de parcelas divididas para determinar la presencia o ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. La existencia de esas diferencias se caracterizó mediante la comparación de medias ($\alpha = 0.05$).

5.4 RESULTADOS Y DISCUSION

5.4.1 Bioensayo uno

Ciclos Ct obtenidos a partir de qPCR

Las plantas inoculadas en el primer ensayo, donde se presentaron temperaturas máximas promedio de 25.27 °C (**Apéndice C, Figura 66**), resultaron negativas en la evaluación mediante RT-qPCR dado que la totalidad de las muestras presentaron valores de ciclos de cuantificación (Ct por sus siglas en inglés, Cycle Threshold) superiores al ciclo 32 (**Cuadro 20**), umbral establecido como criterio de negatividad en el protocolo estandarizado y autorizado por el CNRF para la detección de este virus (CNRF, 2022). Este resultado coincidió con la caracterización biológica previa (**Cuadro 16, capítulo 3**), sin embargo, cabe aclarar que en ese ensayo solo se caracterizó la respuesta de *S. melongena* incluida como planta diferencial.

Cuadro 20. Ciclos de cuantificación obtenidos a partir de qPCR de muestras de cDNA obtenido de plantas de *S. melongena* inoculadas con las 11 fuentes de infección.

Muestra	Ct
Control positivo	15.79
ZAC_SE	32.22
ZAC	33.56
MICH	33.73
XCH	34.06
QRO	34.24
MOR	34.47
SIN	34.56
MAE	35.00
TEST	35.17
SLP	35.32
TLAX	35.53
OAX	36.15
NTC	34.05

Mediante este criterio se determinó que las plantas inoculadas no mostraron infección y por lo tanto se detuvo la evaluación (análisis de biomasa seca); este resultado podría estar asociado con los mecanismos de resistencia de los tejidos de la planta, que pudieron haber limitado la entrada a la célula, la diseminación y el establecimiento del virus, resultando en concentraciones indetectables de la secuencia del RNA viral objetivo en las muestras analizadas al momento del muestreo. Con respecto a esto, en *S. melongena* se desconoce la existencia de genes que otorguen resistencia a los tobamovirus; sin embargo, al ser una solanácea, podría poseer genes homólogos (ortólogos) de resistencia como los reportados en *Solanum* sp. (Topcu et al., 2025), en tomate (Tm-1, Tm-2²), en chile (L¹, L², L³ y L⁴) (Zheng et al., 2024), tabaco (N) (Király et al., 2008).

5.4.2 Bioensayo dos

Ciclos Ct obtenidos a partir de qPCR

Los resultados de los ciclos Ct obtenidos mediante qPCR evidenciaron que las 5 variedades inoculadas fueron infectadas al evaluarse 25 DPI (**Cuadro 21**); esta aseveración obedece a que los ciclos presentaron valores inferiores a los estándares establecidos (CNRF, 2022). El que todas las variedades hayan sido infectadas podría deberse a la susceptibilidad inducida por el estrés térmico, dado que las condiciones de temperatura máximas promedio imperantes en el invernadero durante este ensayo fueron de 40.48 °C (**Apéndice C, Figura 66**); a este respecto, diversos estudios han demostrado que a temperaturas altas se reduce el nivel de expresión de los genes de resistencia y por lo tanto permiten la diseminación sistémica del virus en la planta. Esto se ha documentado en tobamovirus en donde las respuestas de resistencia mediadas por genes que codifican para las proteínas NB-LRR son funcionales únicamente a temperaturas menores de 30 °C: en específico el gen *N en N. xanthi-nc* condiciona la resistencia frente a *T. tabaci* solo por debajo de los 28 °C; ya que a temperaturas superiores, quedan inactivadas la respuesta hipersensible y la restricción de la infección (Király et al., 2008; Zheng et al., 2024; Zhou et al., 2025).

Cuadro 21. Promedios de Ct obtenidos de qPCR a partir de muestras de diferentes variedades de *S. melongena* inoculadas con 10 fuentes de infección contrastados con los controles y promedios por variedad.

		FUENTES DE INFECCIÓN										PROMEDIO VARIEDAD (Ct)
		MAE	MOR	OAX	QRO	SIN	SLP	TEST	TLAX	XCH	ZAC_SE	
VARIEDADES	VAR 1	18.18	31.68	15.29	18.17	31.7	20.06	32.04	20.14	18.68	14.11	22.00
	VAR 2	29.88	25.56	28.38	29.56	29.95	13.28	32.68	31.42	26.73	28.13	27.45
	VAR 3	26.42	28.34	29.74	28.48	28.19	29.03	32.94	29.56	29.87	13.44	27.50
	VAR 4	21.42	15.24	13.51	18.32	21.21	29.06	32.83	12.61	13.84	28.48	20.55
	VAR 5	23.3	30.92	27.48	26.74	30.58	29.03	32.05	23.88	16.52	24.77	26.42
CONTROLES	Neg Ctrl											32.73
	NTC											33.15
	Pos Ctrl											14.95
PROMEDIO FUENTE DE INFECCIÓN (Ct)		23.84	26.34	22.88	24.25	28.32	24.09	31.70	23.52	21.12	20.11	

Los ciclos Ct mostrados en el **Cuadro 21** evidenciaron que hubo diferentes comportamientos de las variables evaluadas; con respecto a variedades, la que presentó el Ct más bajo (20.55) fue la Larga Violeta (variedad 4) y la que presentó el más alto (27.50) fue la variedad Asiática (variedad 3). Lo anterior evidencia que la variedad 4 replicó en mayor medida el genoma del virus con respecto de la variedad 3, sugiriendo diferentes grados de interacción planta-virus. El comportamiento de los Ct de las fuentes de infección estuvo en un rango promedio de 20.11 a 28.32 (ZAC_SE y SIN, respectivamente), lo cual demuestra las diferentes capacidades del virus de apropiarse de la maquinaria celular para multiplicarse en este hospedante bajo estas condiciones de temperatura y estacionalidad. Por otro lado, es importante resaltar que el estado de Sinaloa es el principal productor de *S. melongena* en México y que la fuente de infección colectada en este estado (SIN) fue la que menor carga viral acumuló en el periodo y condiciones evaluadas. Las variedades de *S. melongena* Black Beuty (variedad 2) y Listada de Gandía (variedad 5), las de mayor presencia en los mercados nacionales, arrojaron los Ct de 27.45 y 26.42 lo cual implica que tuvieron cargas virales relativamente bajas; esto es importante en la configuración de este patosistema dado que el riesgo de transmisión es menor por la baja disponibilidad del inóculo para la infección.

Síntomas

Las plantas testigo de todas las variedades fueron asintomáticas, lo que correspondió con los valores Ct (**Cuadro 21**). Las plantas de la variedad 1 inoculadas con las 10 fuentes de infección mostraron predominantemente síntomas de moteado, con excepción de las plantas inoculadas con las fuentes de infección MAE y SIN. Esta variedad presentó un Ct promedio de 22.00; esta carga viral relativamente alta está relacionada a interferencia en la ruta metabólica de la producción de clorofila.

Para el caso de la variedad 2 el síntoma predominante fue amarillamiento leve generalizado de las hojas, con excepción de la fuente de infección TLAX que no presentó síntomas evidentes; los ciclos Ct fueron de 27.45; esta carga viral relativamente baja está relacionada con una menor interferencia en la ruta

metabólica de la producción de clorofila y dando como resultado una respuesta de mayor tolerancia. De manera similar la variedad 3, que tuvo un Ct promedio de 27.50 y que fue asintomática (**Figura 67**).

Las plantas de la variedad 4 mostraron síntomas diversos que fueron desde el amarillamiento leve generalizado, moteado, hasta lesiones necróticas y deformación. Las fuentes de infección que causaron lesiones necróticas fueron OAX (Ct = 13.51) y TLAX (Ct = 12.61) (**Figura 67**).

Las plantas de la variedad 5 mostraron amarillamientos leves generalizados cuando fueron inoculadas con las fuentes de infección MAE, MOR, OAX y ZAC_SE; y la necrosis se observó en forma de lesiones irregulares con las fuentes de infección QRO (Ct = 26.74), ZAC_SE (Ct = 24.77) y XCH (Ct = 16.52) (**Figura 67**), resaltando esta última que presentó la mayor proporción de lesiones cloróticas con bordes necróticos (**Apéndice D, Figura 71**).

Esta aparente relación entre síntomas y carga viral como por ejemplo variedad 5-XCH (Ct = 16.52) debe ser sometida a un escrutinio mayor que permita confirmarla; interpretar que la expresión de síntomas de necrosis está relacionada a la alta carga viral comparada con una expresión de asintomática con Ct promedio de 27.50 obtenidos de la variedad 3.

Evaluación de la biomasa

Relación promedios de biomasa-fuentes de infección

La **Figura 34** representa los promedios totales de biomasa de la totalidad de las plantas de todas las variedades inoculadas con cada fuente de infección; donde se observó que los promedios (g) de biomasa seca variaron en función de la fuente de infección. El tratamiento testigo presentó la media más alta de peso seco (33.32 g), mientras que la biomasa obtenida de las plantas inoculadas mostró valores con medias entre 17.37 g y 22.40 g. Esto representó una reducción aproximada de biomasa cercana al 40%. Esto sugirió que cada fuente de infección tiene un efecto diferente sobre la producción de biomasa, destacando ZAC_SE (SEED), que disminuyó este parámetro en mayor porcentaje (47.89%) y TLAX que presentó

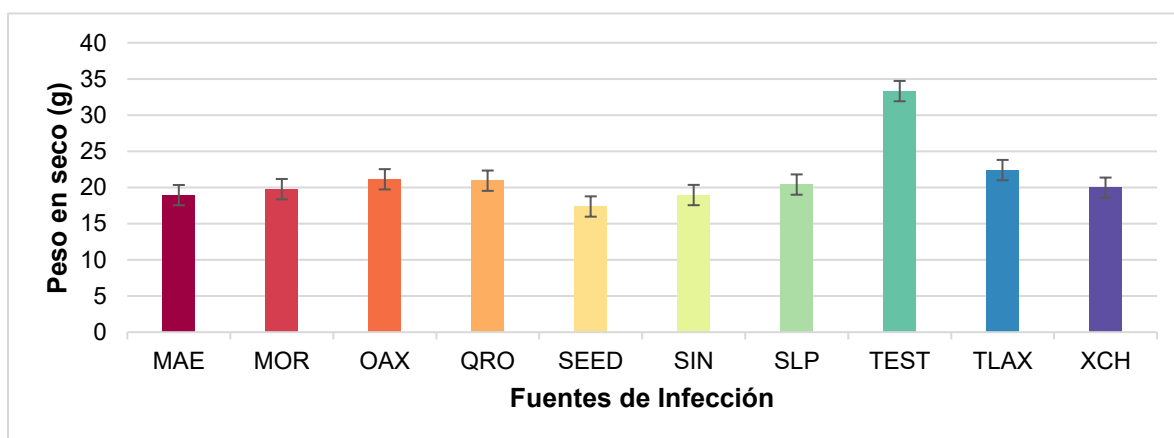


Figura 34. Biomasa promedio acumulada en plantas de *S. melongena* inoculadas con 10 fuentes de infección y un grupo testigo.

disminución en un porcentaje del 32.77 %. Este resultado aunado a la expresión de síntomas en ZAC_SE (desde amarillamiento hasta necrosis) y a un Ct promedio de 20.11, sitúa a esta fuente de infección como la más agresiva en este hospedante. Relacionando esto con resultados previos la ubica en el clado 3 (**Figura 29**), con cuatro SNPs (**Cuadro 13**), una respuesta biológica diversa en plantas diferenciales (**Cuadro 15**) y un valor Ct a partir de las plantas infectadas de *S. lycopersicum* de 13.37 (**Cuadro 18**). Los resultados de la caracterización de esta fuente de infección la ubicaron como un problema potencial para estos dos cultivos, ya que presentó mutaciones y aun así conservó su patogenicidad con altas cargas virales.

Estas evidencias (Ct, sintomatología y biomasa seca) junto con la caracterización molecular, biológica y carga viral en hospedantes de importancia agrícola y experimental no se han reportado previamente, ya que los estudios existentes se han basado en la determinación de la susceptibilidad de este hospedante (Kubota et al., 2023; Matsushita et al., 2024; Zamora et al., 2025).

Relación promedios de biomasa-variedad

La **Figura 35** resume los promedios de biomasa seca de la totalidad de las plantas inoculadas de cada variedad con respecto a su testigo (sin considerar la fuente de infección). Los valores promedio de peso seco mostraron diferencias entre los grupos infectados y sus respectivos testigos. Las variedades 2 y 5 presentaron los promedios mayores de peso seco (23.67 g y 23.59 g, respectivamente), seguidas de la variedad 3 (22.16 g) y la variedad 1 (17.99 g); mientras que la variedad 4 registró el menor valor promedio (16.73 g).

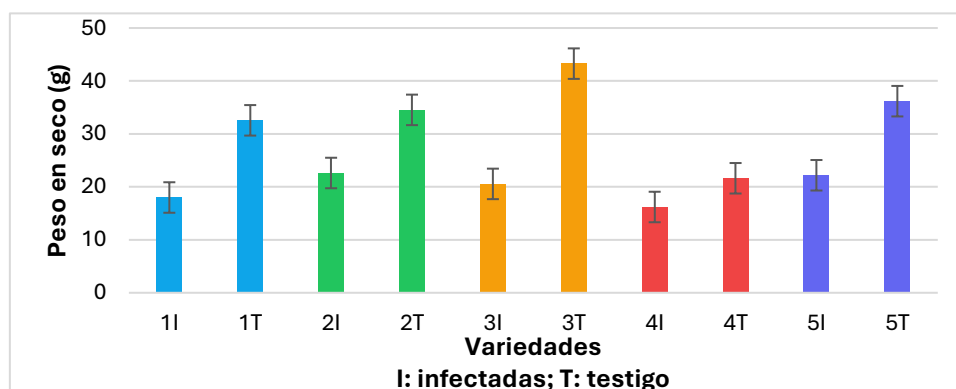


Figura 35. Biomasa promedio acumulada en plantas inoculadas de las cinco variedades de *S. melongena* con respecto a su testigo.

La comparación de cada variedad infectada con su respectivo grupo testigo, mostró diferencias en el porcentaje de reducción de biomasa: las variedades 1, 2 y 5 presentaron 44.75%, 34.51% y 38.67%, respectivamente, la variedad 4 mostró el menor impacto (25.06%) y la variedad 3 presentó la mayor disminución relativa (52.49%). Estos contrastes sugieren heterogeneidad en el efecto de la infección sobre las variedades, lo que indica una respuesta diferencial del hospedero dependiente del genotipo de la variedad evaluada; situando a la variedad 3 como la más susceptible de ser alterada en su biomasa y la variedad 4 como la menos

afectada. Con respecto a esto, son nulos los estudios donde se evalúen la respuesta en diferentes variedades de *S. melongena* con diferentes fuentes de infección. Sin embargo, es evidente que la variedad 3 presentó la mayor disminución de biomasa y en la evaluación de la carga viral fue la que tuvo menor concentración ($C_t = 27.50$) y viceversa con la variedad 4: 25.06 %, 20.55, disminución de biomasa y C_t , respectivamente. Este comportamiento puede deberse a la intensidad de la respuesta inmune de las variedades mencionadas; en diversos estudios se ha mencionado que la respuesta de la defensa de la planta lleva consigo un costo de recursos que originalmente estaban destinados a la producción de biomasa; debido a que involucra la activación de diversas señales asociadas (Heil, 2002; Huot et al., 2014); es decir, mientras más intensa sea la defensa de la planta, mayor será el impacto sobre su desarrollo. Estos resultados evidencian dos tipos de respuestas: una intensa en la que se priorizó la defensa celular a costo de la biomasa que coincide con los estudios mencionados, y otra en la que probablemente la producción de biomasa se prefirió ante la defensa celular.

Por otro lado, el efecto del virus frente a las variedades presentes en el mercado mexicano (2 y 5) de este cultivo fue promedio. Este resultado podría causar menor preocupación a los productores dado que, aunque se presentaron síntomas diversos, las cargas virales fueron bajas con C_t de 27.45 y 26.42, respectivamente, y en consecuencia podría disminuir la probabilidad de diseminación y por ende menor afectación en el rendimiento debido a que habría menor secuestro de moléculas necesarias para la síntesis de viriones.

Las interpretaciones anteriores estuvieron basadas en el comportamiento de los promedios y características cualitativas, por lo que a continuación se presentan los análisis estadísticos.

Análisis estadístico de las variables fuente de infección, variedad e interacción entre ellas

Análisis de varianza

El análisis de varianza mostró diferencias significativas para la fuente de infección ($Pr > F = 0.0001$), la variedad ($Pr > F = 0.0001$) y la interacción fuente $\times$ variedad ($Pr > F = 0.0001$), lo que indicó que ambos factores influyen en la producción de biomasa y que su efecto no es independiente.

Análisis de medias del efecto de la fuente de infección

En la **Figura 36** y **Cuadro 23 (Apéndice E)** se reportan los valores promedio de la biomasa seca de las plantas inoculadas con las fuentes de infección evaluadas; este análisis mostró diferencias estadísticas significativas del efecto de la fuente de infección sobre la biomasa. De acuerdo con la prueba de Tukey, el tratamiento testigo se ubicó en el grupo superior (a), con la mayor media de biomasa (33.324 g), seguida de TLAX (b) con 32.77 g y ZAC_SE se ubicó en el grupo inferior (c) con la menor (17.370 g). Las demás fuentes de infección se agruparon principalmente en la categoría “bc”, lo que indicó ausencia de diferencias estadísticas significativas entre ellas.

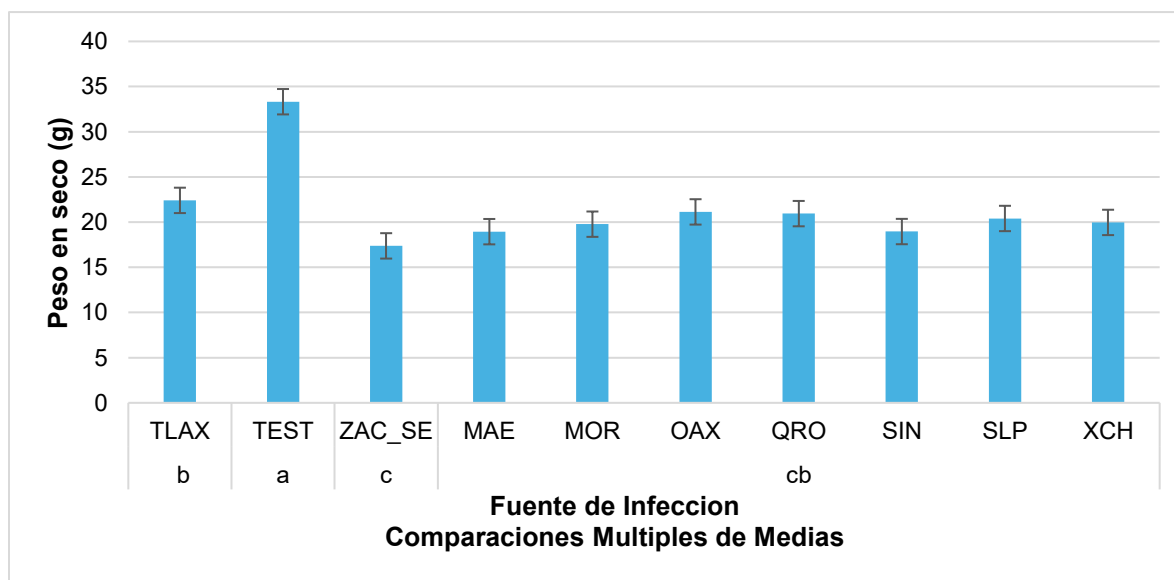


Figura 36. Análisis de medias del efecto de la fuente de infección y comparación múltiple de medias (letras).

Estos resultados indicaron que la infección viral redujo la biomasa seca de las plantas inoculadas con respecto al testigo. Sin embargo, el solapamiento entre grupos sugirió la imposibilidad de establecer un orden estadístico sobre esta variable evaluada. Este análisis permitió afirmar con solidez estadística que el conjunto de fuentes de infección redujo significativamente la biomasa respecto al testigo, diferenciándose las fuentes de infección ZAC_SE y TLAX. El análisis de varianza y su respectiva prueba de medias evidenciaron diferencias estadísticas en esta variable; estas diferencias pueden relacionarse con la variabilidad genómica de las fuentes de infección: los tobamovirus, al poseer genomas de RNAss+, presentan altas tasas de mutación que generan “poblaciones” heterogéneas (cuasiespecies), con distintas capacidades de replicación de su genoma, encapsidación, movimiento sistémico y supresión de las defensas del hospedero (Domingo et al., 2012). En consecuencia, diferentes fuentes de infección pueden ejercer efectos variables sobre el desarrollo vegetal, lo que se refleja en las diferencias observadas en biomasa; esta aseveración está basada en que el comportamiento de TLAX (Clado 1, 5 SNPs) y ZAC_SE (Clado 3, 4 SNPs) fue contrastante en esta variable.

Análisis de medias del efecto de la variedad

La **Figura 37** y **Cuadro 24 (Apéndice E)** contienen los valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas de las variedades evaluadas y representa el efecto de la variedad sobre la biomasa. Estos valores indicaron que la variedad tuvo influencia estadísticamente significativa sobre este parámetro: las variedades 2, 5 y 3 se agruparon en el grupo superior (a), mientras que la variedad 1 en el “b” y la variedad 4 en el “c”, con la media más baja. Esto indicó que existieron diferencias entre los genotipos de las variedades de *S. melongena* que afectaron la producción de biomasa bajo las condiciones evaluadas independientemente de otros factores como el efecto del patógeno. Y se demostró la variabilidad intrínseca entre variedades en su capacidad de desarrollo y por lo tanto en la producción de biomasa. Este dato sirve para conocer el comportamiento de las variedades en la

producción de biomasa independientemente del virus y no atribuirla al efecto absoluto del virus.

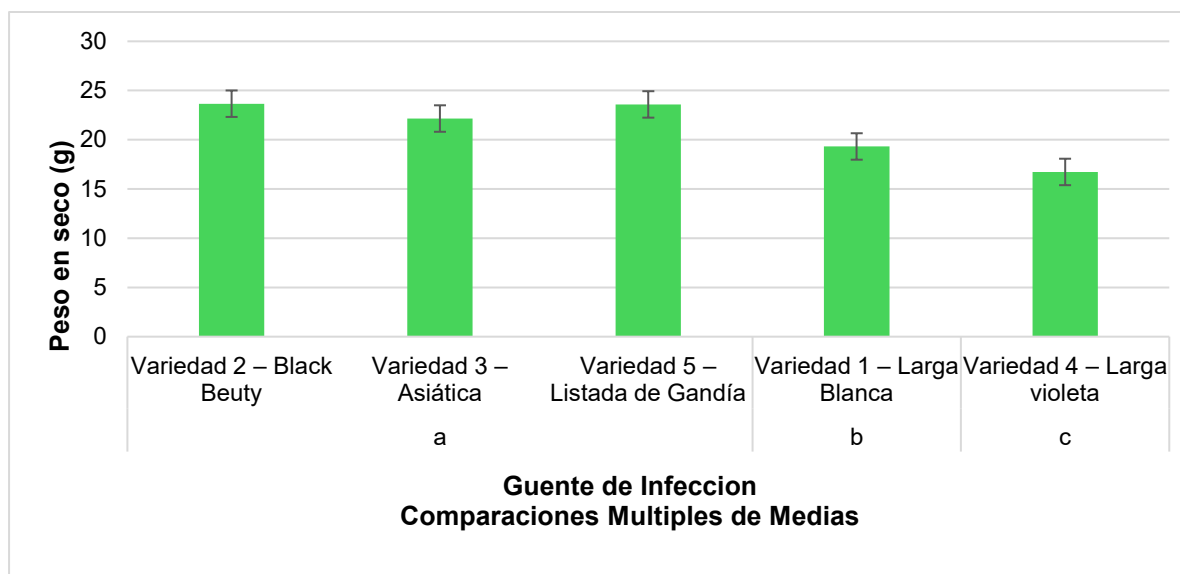


Figura 37. Análisis de medias del efecto de la variedad.

Análisis de medias del efecto de la interacción fuente-variedad

En la **Figura 38** y el **Cuadro 25 (Apéndice E)** se representan los valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas por variedad con su interacción con la fuente de infección. Este aspecto fue estadísticamente significativo, lo que indicó que las fuentes de infección afectaron de manera diferente a las variedades evaluadas. Las comparaciones de Tukey–Kramer (variante de la prueba utilizada cuando las repeticiones no son uniformes) mostraron múltiples grupos estadísticos para las combinaciones específicas, evidenciando una respuesta diferencial del hospedero frente a las distintas fuentes de infección. Las combinaciones con mayor biomasa correspondieron principalmente a tratamientos, y las combinaciones de plantas inoculadas se ubicaron en grupos intermedios o inferiores, aunque con amplio solapamiento estadístico entre ellas.

En este contexto, una misma variedad puede pertenecer a un grupo superior bajo una fuente de infección determinada, pero a un grupo inferior bajo otra, lo que confirma que la respuesta del hospedero estuvo condicionada por la fuente de infección. Este comportamiento se reflejó también en el entrecruzamiento de las gráficas de medias de mínimos cuadrados (Figura 39), lo cual reforzó que la interacción fue específica entre fuentes de infección-variedad y se demostró al evaluar este parámetro, donde ciertas variedades fueron más afectadas por algunas fuentes de infección específicas.

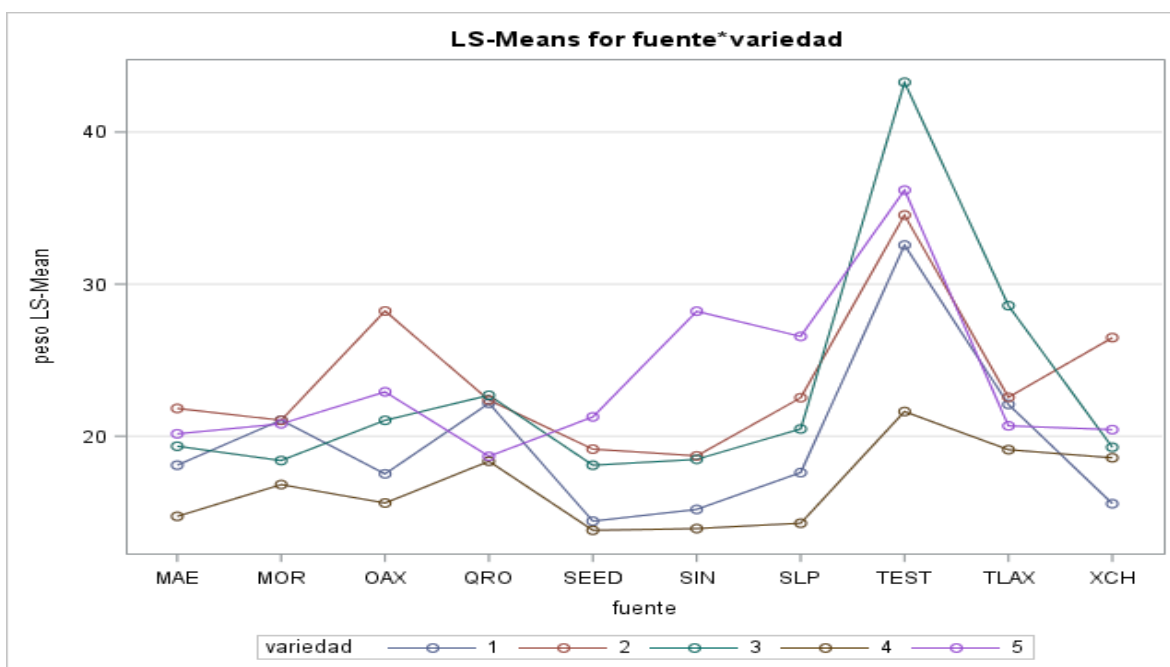


Figura 39. Gráficas de medias ajustadas por mínimos cuadrados de biomasa seca de las plantas de las variedades inoculadas influenciada por las fuentes de infección.

La interacción diversa puede explicarse por la naturaleza de la cuasiespecie del virus presente (“población” de variantes muy parecidas entre sí (Domingo et al., 2012), cuya diversidad genética genera variantes con distinto comportamiento (Domingo et al., 2012) que interaccionan con el fondo genético de las variedades evaluadas generando esta respuesta diferencial. En consecuencia, la magnitud del efecto sobre la biomasa dependió de la compatibilidad específica entre cada fuente de infección y cada genotipo hospedero, lo que es consistente con modelos de interacción hospedero–patógeno en los que la severidad de la enfermedad está condicionada tanto por la virulencia del patógeno, así como por la resistencia o

tolerancia del hospedero (Hull, 2013). Por esto, el principal hallazgo de este ensayo fue que el efecto de la infección dependió de la combinación específica entre fuente de infección-variedad.

Aunque en el anterior análisis de la biomasa, perfiló a la variedad 3 como la más afectada y la variedad 4 como la menos afectada, estadísticamente fue imposible corroborar esta relación debido a que, en el análisis estadístico de esta interacción, estas variedades tuvieron un comportamiento similar con las demás (Grupos estadísticamente similares, **Cuadro 25**).

5.4.3 Bioensayo tres

Ciclos Ct obtenidos a partir de qPCR

El **Cuadro 22** resume los promedios de Ct obtenidos de qPCR a partir de muestras de diferentes variedades de *S. melongena* inoculadas con cinco fuentes de infección (25 DPI) contrastados con los controles. Los ciclos Ct demostraron que el 25% de plantas se infectó. Esto considerando como negativas aquellas muestras sin amplificación, con valores de Ct iguales o superiores al promedio de los controles NTC (29.21), lo que indicó ausencia de infección; es importante resaltar que durante el periodo en que se desarrolló el experimento se presentaron temperaturas máximas promedio de 36.60 °C (**Apéndice C, Figura 66**).

Cuadro 22. Promedios de Ct obtenidos de qPCR a partir de muestras de diferentes variedades de *S. melongena* inoculadas con cinco fuentes de infección contrastados con los controles.

		FUENTES DE INFECCIÓN						PROMEDIO
		MAE	MOR	SIN	SLP	TEST	TLAX	
VARIEDAD	VAR 1	25.18	30.73	29.55	25.06	30.05	29.64	28.37
	VAR 2	30.82	30.90	31.04	30.28	30.10	30.46	30.60
	VAR 3	31.16	29.96	29.56	30.28	29.65	29.39	30.00
	VAR 4	24.04	29.91	29.91	24.72	30.32	30.69	28.26
	VAR 5	28.08	23.33	30.76	31.03	30.66	28.11	28.66
CONTROLES	Pos Ctrl							3.97
	Neg Ctrl							N/A
	NTC							29.21
PROMEDIO		27.86	28.96	30.16	28.27	30.16	29.66	

En las variedades 2 y 3 no se detectaron ácidos nucleicos virales objetivo, mediante qPCR, para ninguna de las fuentes de infección sugiriendo que en estas variedades bajo esas condiciones fueron tolerantes a la infección. En las variedades inoculadas con la fuente de infección SIN no se detectaron muestras positivas. La menor proporción de infección, en comparación con otras repeticiones, podría explicarse por la interacción entre el fondo genético previamente mencionado y las temperaturas presentadas durante esta repetición, ya que bajo determinadas condiciones térmicas algunos mecanismos de resistencia pueden estar activos y limitar la diseminación sistémica del virus (Canto & Palukaitis, 2002; Obrępalska-Stęplowska et al., 2015). En este sentido, es probable que dicha interacción (genética-temperatura) haya reducido la tasa de infección y por lo tanto el progreso de la enfermedad, dando lugar a un aplanamiento de la curva de progreso de la enfermedad y que al momento del muestreo las plantas presentaran una carga viral por debajo de los límites de detección (**Figura 40.**) como se ha señalado previamente (APS, s/f; González-Domínguez et al., 2020).

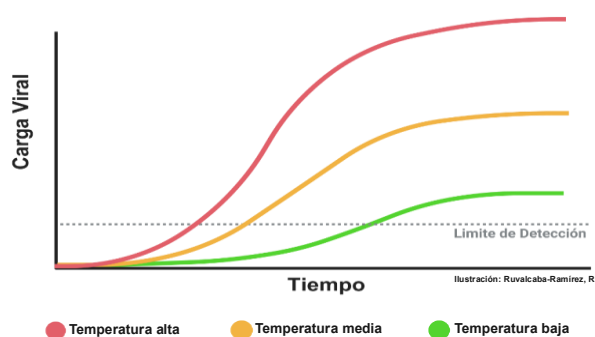


Figura 40. Representación del incremento de la carga de ácidos nucleicos virales a lo largo del tiempo bajo diferentes temperaturas. Elaborada a partir de APS (s/f) y González-Domínguez et al. (2020).

Lo anterior aunado a que durante el proceso de extracción de RNA, normalización de concentración en las muestras, síntesis de cDNA y qPCR se realizaron diluciones de ácidos nucleicos totales, lo cual podría haber llevado a que en la reacción final se partiera de concentraciones a niveles subdetectables (**Apéndice F, Figura 73**).

Síntomas

Las plantas testigo de todas las variedades fueron asintomáticos.

En la variedad 5, la fuente de infección TLAX y MICH ocasionaron manchas cloróticas; mientras que SIN ocasionó lesiones necróticas. En la variedad 1, TLAX manchas circulares cloróticas, MOR necrosis en áreas adyacentes a la nervadura y MICH manchas circulares dispuestas en mosaico. En la variedad 4-MICH y SLP ocasionaron clorosis en patrones circulares y lineales adyacentes a la nervadura (Figura 72).

Evaluación de la biomasa

Relación promedios de biomasa-fuentes de infección

La **Figura 41** representa la biomasa promedio acumulada en plantas de *S. melongena* inoculadas con cinco fuentes de infección y un grupo testigo. Los promedios de peso seco variaron de acuerdo con la fuente de infección. El tratamiento testigo presentó la media más alta de biomasa (54.93 g). El comportamiento de la biomasa de las plantas infectadas fue más uniforme (13% y 26%) que en el segundo ensayo (entre 32.77% y 47.89%). Lo cual está relacionado al menor porcentaje de incidencia en este ensayo. La diferencia entre repeticiones podría estar relacionada con cambios en las condiciones ambientales; sin embargo, esa interpretación debería mantenerse como una hipótesis que requiere ensayos específicos para evaluar la temperatura como factor determinante.

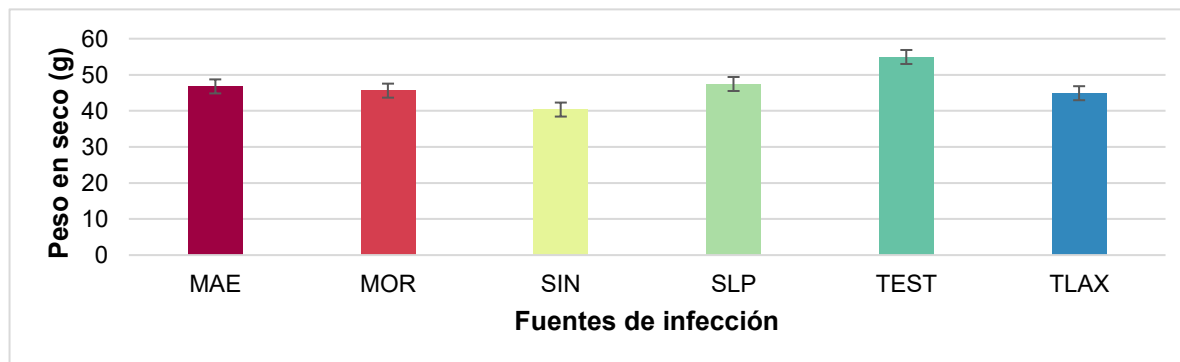


Figura 41. Biomasa promedio acumulada en plantas de *S. melongena* inoculadas con cinco fuentes de infección y un grupo testigo.

Entre estos resultados destacó la fuente SIN que registró la media más baja entre las plantas infectadas (40.35 g); a pesar de que cuando se evaluó por qPCR el Ct

indicó ausencia de infección (Ct= 30.16). Esta aparente disonancia podría explicarse con lo reportado en otros estudios, como los realizados en *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum* y *Oryza sativa*, donde la exposición a patógenos o la inducción de la activación de vías hormonales asociadas a la defensa (como las mediadas por ácido salicílico (SA) y el ácido jasmónico (JA)) ocasionó una reasignación de recursos moleculares (incluidos los nucleótidos, aminoácidos, ATP, entre otros) hacia la respuesta de defensa (Heil, 2002; Huot et al., 2014); en este sentido, es posible que esta fuente de infección sea reconocida de manera más eficiente por los mecanismos de defensa de *S. melongena*, desencadenando una respuesta inmune más intensa, que aun en una carga viral con niveles subdetectables, impactó negativamente en la acumulación de biomasa.

Relación promedios de biomasa- variedad

La **Figura 42** esquematiza los promedios de la biomasa acumulada en plantas inoculadas y testigo de cinco variedades de *S. melongena*; donde se observaron diferencias notables en los valores de peso seco de las plantas inoculadas con respecto a su testigo. Las variedades 2 y 5 presentaron los mayores valores promedio de peso seco de (47.64 g y 45.41 g, respectivamente); mientras que las variedades 3 (43.6 g) y 4 (42.29 g) tuvieron los menores promedio en las plantas inoculadas y la variedad 1 con el peso intermedio con 44.61 g.

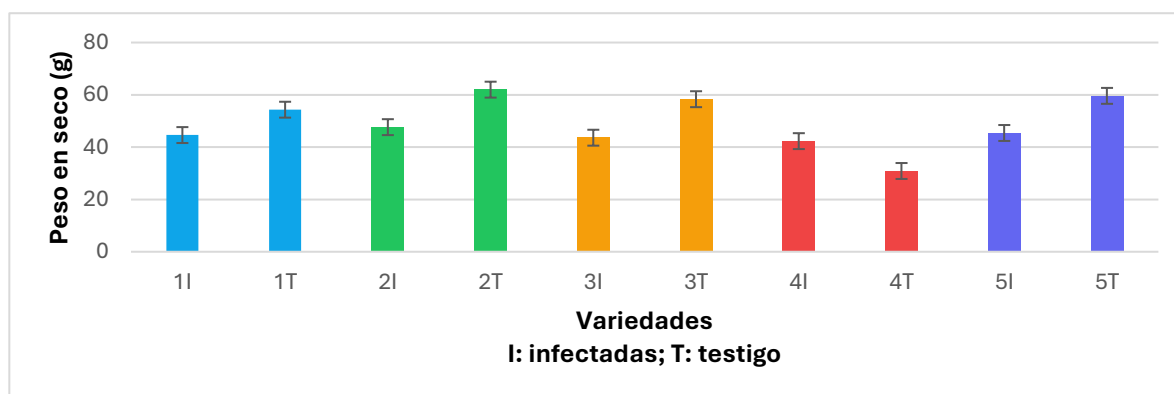


Figura 42. Biomasa promedio acumulada en plantas inoculadas y testigo de cinco variedades de *S. melongena*.

La comparación del impacto relativo (en términos de porcentaje) con respecto al grupo testigo de cada variedad, demostró que las variedades 3 y 5 fueron las que tuvieron mayor reducción de biomasa (25% y 24%, respectivamente), las variedades con menor reducción de biomasa fueron las 1 y 2 (18% y 23%, respectivamente). Estos valores, a pesar de que son cercanos entre sí, evidenciaron el impacto sobre la biomasa e indicaron diferentes niveles de tolerancia en las variedades, como, por ejemplo, la variedad 2 que tuvo la menor reducción de biomasa situándola como la más tolerante.

Análisis estadístico de las variables fuente de infección, variedad e interacción entre ellas

Análisis de varianza del efecto de la fuente de infección

El análisis de varianza mostró diferencias significativas para la fuente de infección ($Pr > F = 0.0006$), la variedad ($Pr > F = 0.0059$) y la interacción fuente-variedad ($Pr > F = 0.0091$), lo que indicó que ambos factores influyen en la producción de biomasa y que su efecto no es independiente.

Análisis de medias del efecto de las fuentes de infección

Las medias ajustadas mostraron diferencias significativas entre fuentes de infección (**Figura 43**). El tratamiento testigo se ubicó en el grupo superior (a) seguido de SLP (b), mientras que SIN se ubicó en el grupo inferior (c), con la menor media de biomasa (**Cuadro 26**). Por su parte, MAE, MOR y TLAX se distribuyeron en el grupo intermedio (bc). Estos resultados respaldan que la fuente de infección afectó negativamente la biomasa en comparación con el testigo. Sin embargo, al igual que en el segundo ensayo (**Cuadro 23**), las agrupaciones compartidas indican que las fuentes de infección se comportaron estadísticamente similar. Las diferencias entre fuentes de infección (SIN, SLP y las demás) reflejan la variabilidad genómica entre ellas y su comportamiento sobre las rutas metabólicas del hospedero y por consiguiente presentaron mayor daño fisiológico y menor acumulación de biomasa (Domingo et al., 2012; Hull, 2013).

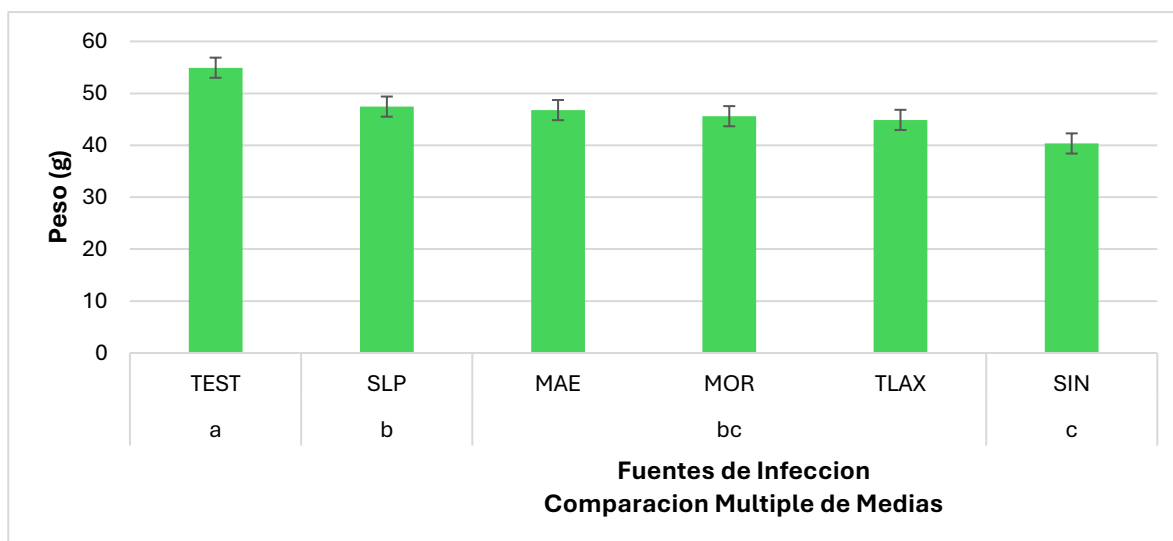


Figura 43. Análisis de medias del efecto de las fuentes de infección.

Análisis de medias del efecto de la variedad

El efecto de la variedad sobre la biomasa presentó un efecto significativo (**Figura 44**), al igual que en el ensayo anterior (**Cuadro 27**). En este ensayo se identificaron solo dos grupos estadísticamente diferentes; en estos, las variedades 2 y 5 se ubicaron en el grupo superior produciendo más biomasa (a) y la variedad 4 en el grupo inferior (b), mientras que las variedades 1 y 3 se ubicaron en una categoría intermedia (ab), en las que estadísticamente no se diferencian de los grupos. Estas diferencias evidenciaron el efecto del genotipo de *S. melongena* sobre la acumulación de biomasa bajo las condiciones evaluadas. Este dato sirvió para conocer el comportamiento de las variedades en la producción de biomasa independientemente del virus y no atribuirla al efecto absoluto del virus.

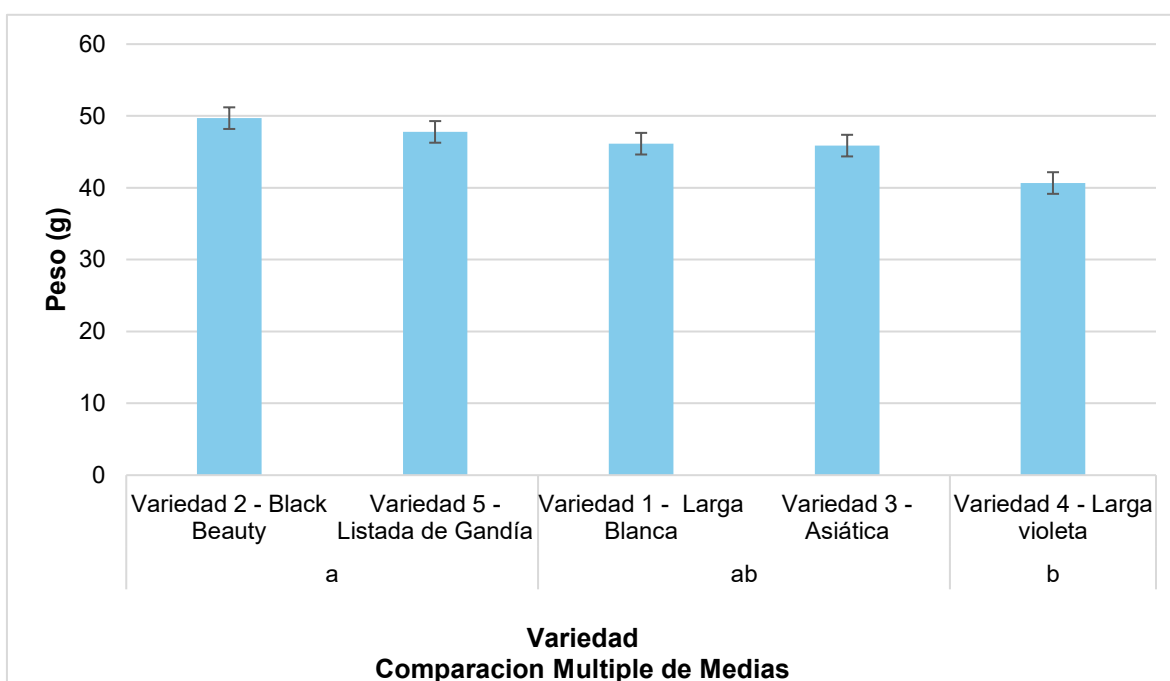


Figura 44. Análisis de medias del efecto de la variedad.

Análisis de medias del efecto de la interacción fuente de infección-variedad

Las comparaciones de medias ajustadas por mínimos cuadrados (LSMeans) mediante Tukey-Kramer mostraron la formación de múltiples grupos estadísticos,

evidenciando una amplia variabilidad entre combinaciones específicas; lo que indicó que el efecto de la fuente de infección depende de la variedad (**Figura 45**). Por ejemplo, las combinaciones con mayor producción de biomasa correspondieron principalmente a TEST con las variedades 2 (61.99), 5 (59.61) y 3 (58.34), las cuales se ubicaron en el grupo superior. En contraste, combinaciones como TEST × variedad 4 (30.88) y SLP × variedad 4 (36.07) presentaron los valores más bajos. El resultado de la interacción TEST × variedad 4, debe tomarse con especial precaución debido a que estuvo asociada a la pérdida de plantas en este ensayo (**Cuadro 28**).

La respuesta en la producción de biomasa de las variedades en estudio fue variable y dependió de la combinación específica entre fuente de infección y variedad. Desde un punto de vista biológico, esto sugirió una interacción diferencial hospedero-virus: donde ciertos genotipos vegetales permiten un mejor desempeño bajo determinadas fuentes de infección, mientras que otros presentan una mayor reducción en biomasa. La compatibilidad específica, entre variante viral y genotipo del hospedero, determina la eficiencia de multiplicación, movimiento sistémico y evasión de las defensas celulares, lo que afecta la acumulación de biomasa (Domingo et al., 2012; Oliver, 2024).

La **Figura 46** esquematiza las medias de medias de mínimos cuadrados de biomasa seca de las plantas de las variedades inoculadas influenciada por las fuentes de infección donde se observa un comportamiento similar al ensayo 2 (**Figura 39**), reforzando así que la interacción es específica entre fuentes de infección-variedad.

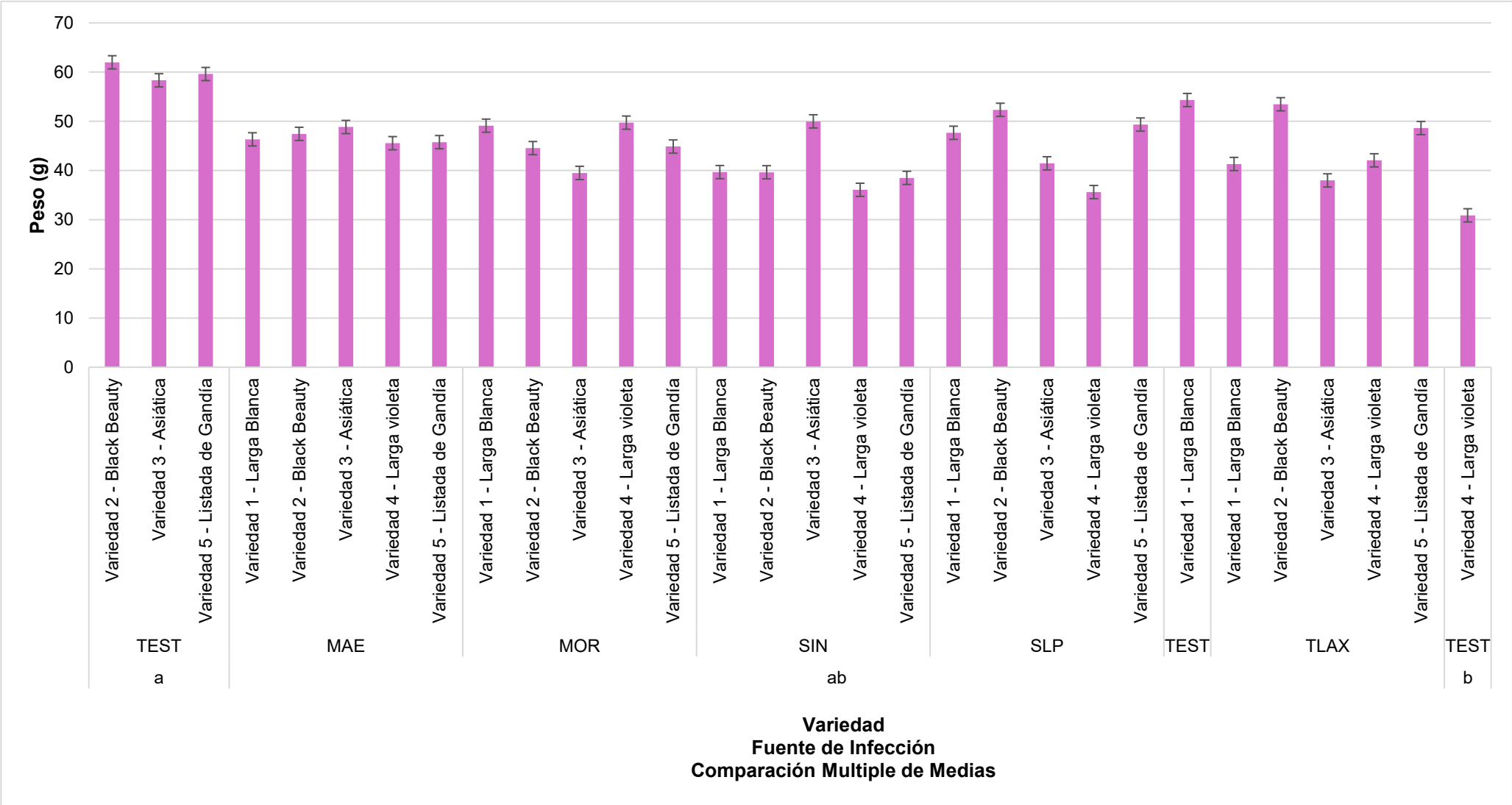


Figura 45. Análisis de medias del efecto de la interacción fuente de infección-variedad.

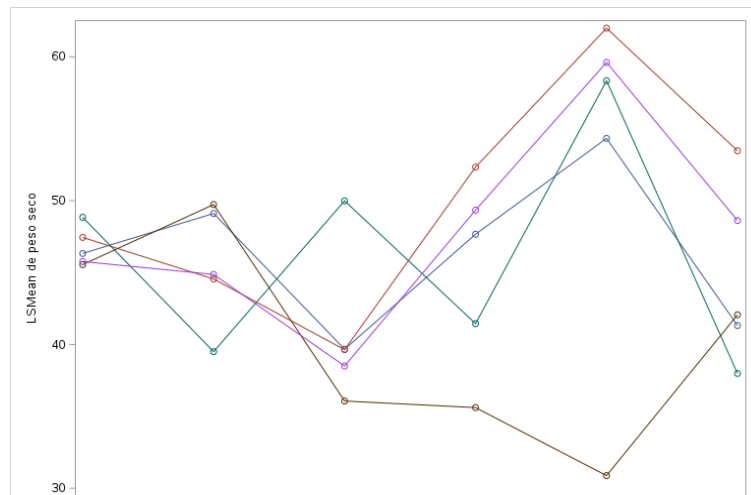


Figura 46. Gráficas de medias ajustadas por mínimos cuadrados de biomasa seca de las plantas de las variedades inoculadas influenciada por las fuentes de infección.

El comportamiento de la variedad 2 se destacó por presentar la mayor cantidad de biomasa y ser la segunda menos afectada por las fuentes de infección en los dos últimos ensayos, sin embargo, en el análisis de medias de Tukey quedó con el grupo estadísticamente similar. Esta respuesta de resistencia es debida a su fondo genético mediando la respuesta frente a la infección de *T. fructirugosum* como sucede con otras solanáceas (Király et al., 2008; Topcu et al., 2025; Zheng et al., 2024). De la misma forma, la variedad 5 presentó atributos correspondientes. Estos resultados demostraron que estas dos variedades (mayor presencia en los mercados nacionales) aunque son afectadas por el virus, representan un riesgo menor como fuentes de inoculo en la configuración del patosistema *T. fructirugosum*-*S. melongena* en México. Resaltando que este comportamiento se presentó bajo condiciones controladas.

En conjunto los resultados obtenidos demuestran que el efecto de la infección viral en *S. melongena* estuvo determinado por la interacción entre la fuente de infección, el genotipo de la variedad y las condiciones ambientales presentes durante cada repetición del ensayo. La reducción de biomasa observada en las plantas en los ensayos con infección establecida, confirmó el impacto fisiológico variable frente al virus; esto dependiente de la combinación específica entre fuente de infección y

fondo genético de la variedad. Adicionalmente, las diferencias en la determinación (Ct) por qPCR entre repeticiones sugirieron que la temperatura moduló la dinámica de la infección, posiblemente al alterar la eficiencia de los mecanismos de defensa previamente discutidos para tobamovirus. Lo anterior abre una ventana para futuras investigaciones.

5.5 CONCLUSIONES

En el primer ensayo no se detectó infección viral mediante qPCR, impidiendo la asociación de infección con cambios en biomasa.

En el segundo y tercer ensayos, la infección viral se asoció con una reducción de la biomasa seca respecto al testigo, lo que confirmó la susceptibilidad de *S. melongena* ante diferentes fuentes de infección de *T. fructirugosum*.

La fuente de infección influyó significativamente en la acumulación de biomasa, pero el solapamiento entre grupos estadísticos indicó que no puede establecerse un orden claro de agresividad en la mayoría las fuentes de infección evaluadas.

El efecto variedad también fue significativo sobre la producción de biomasa, lo que evidenció un diferente fondo genético en cada una de ellas.

La interacción fuente de infección–variedad fue significativa, lo que demostró que el efecto del virus dependió de la interacción y no de cada factor por separado.

Los Ct, obtenidos de qPCR en los tres ensayos (en tres diferentes épocas) fueron diferentes; lo que demostró el papel de las condiciones ambientales en la dinámica de infección, probablemente modulando los mecanismos de resistencia o tolerancia previamente discutidos para tobamovirus.

Las variedades que se perfilaron como las más tolerantes a la infección por el virus fueron las variedades Black Beauty (2) y Listada de Gandía (5); mientras que la más susceptible fue la variedad Asiática (4).

El comportamiento del patosistema *T. fructirugosum*-*S. melongena* estuvo marcadamente influenciado por las temperaturas imperantes durante la evaluación: las temperaturas máximas fueron de 25.25 °C, 40.48 °C y 36.60 °C para los ensayos uno, dos y tres, respectivamente

Por esto, el principal hallazgo de este ensayo fue que el efecto de la infección dependió de la combinación específica entre fuente de infección-variedad.

En conjunto, los resultados demostraron que *T. fructirugosum* fue capaz de infectar *S. melongena* con distinta intensidad dependiendo de una interacción compleja entre los fondos genéticos de la fuente de infección y de la variedad, junto con las condiciones ambientales del ensayo.

5.6 REFERENCIAS

- APS. (s/f). *Chapter 6: Modeling the Effects of Host Plant Resistance on Plant Disease Epidemics*. American Phytopathological Society. Recuperado el 20 de abril de 2026, de https://www.apsnet.org/edcenter/sites/BotanicalEpidemiology/Pages/Effects ofHostPlantResistance.aspx?utm_source=chatgpt.com
- Canto, T., & Palukaitis, P. (2002). Novel *N* Gene-Associated, Temperature-Independent Resistance to the Movement of *Tobacco Mosaic Virus* Vectors Neutralized by a *Cucumber Mosaic Virus* RNA1 Transgene. *Journal of Virology*, 76(24), 12908–12916. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.24.12908-12916.2002>
- Chanda, B., Gilliard, A., Jaiswal, N., & Ling, K.-S. (2021, noviembre). *Comparative Analysis of Host Range, Ability to Infect Tomato Cultivars with Tm-22 Gene, and Real-Time Reverse Transcription PCR Detection of Tomato Brown Rugose Fruit Virus*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1070-RE>
- CNRF, C. N. D. R. F. (2022). *Protocolo de Diagnóstico: Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) (Virus del fruto rugoso marrón del tomate)*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/793315/Protocolo_ToBRFV.pdf
- DGSIAP. (2025). *Panorama Agroalimentario 2025* (No. 15; Panorama Agroalimentario e Infografías Estatales). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/dgsiap/acciones-y-programas/panorama-agroalimentario-258035>
- Domingo, E., Sheldon, J., & Perales, C. (2012). Viral Quasispecies Evolution. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(2), 159–216. <https://doi.org/10.1128/mnbr.05023-11>

FAOSTAT. (2026). *FAOSTAT*. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QV>

González-Domínguez, E., Fedele, G., Salinari, F., & Rossi, V. (2020). A General Model for the Effect of Crop Management on Plant Disease Epidemics at Different Scales of Complexity. *Agronomy*, 10(4), 462. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040462>

Gürbüz, N., Uluişik, S., Frary, A., Frary, A., & Doğanlar, S. (2018). Health benefits and bioactive compounds of eggplant. *Food Chemistry*, 268, 602–610. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.093>

Heil, M. (2002). Fitness costs of induced resistance: Emerging experimental support for a slippery concept. *Trends in Plant Science*, 7(2), 61–67. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02186-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02186-0)

Hull, R. (2013). *Plant Virology*. <https://shop.elsevier.com/books/plant-virology/hull/978-0-12-384871-0>

Huot, B., Yao, J., Montgomery, B. L., & He, S. Y. (2014). Growth–Defense Tradeoffs in Plants: A Balancing Act to Optimize Fitness. *Molecular Plant*, 7(8), 1267–1287. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu049>

Király, L., Hafez, Y. M., Fodor, J., & Király, Z. (2008). Suppression of tobacco mosaic virus-induced hypersensitive-type necrotization in tobacco at high temperature is associated with downregulation of NADPH oxidase and superoxide and stimulation of dehydroascorbate reductase. *Journal of General Virology*, 89(3), 799–808. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83328-0>

Kubota, K., Takeyama, S., Ishibashi, K., Matsushita, Y., Tomitaka, Y., Matsuyama, M., Shinosaka, H., & Ohsaki, K. (2023). Host range and pathogenicity of tomato brown rugose fruit virus. *Japanese Journal of Phytopathology*, 89(4), 225–234. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.89.225>

Luria, N., Smith, E., Reingold, V., Bekelman, I., Lapidot, M., Levin, I., Elad, N., Tam, Y., Sela, N., Abu-Ras, A., Ezra, N., Haberman, A., Yitzhak, L., Lachman, O.,

- & Dombrovsky, A. (2017). A New Israeli Tobamovirus Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-22 Resistance Genes. *PLOS ONE*, 12(1), e0170429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170429>
- Matsushita, Y., Takeyama, S., Tomitaka, Y., Matsuyama, M., Ishibashi, K., Shinosaka, H., Osaki, K., & Kubota, K. (2024). Elucidating the nature of seed-borne transmission of tomato brown rugose fruit virus in tomato, bell pepper, and eggplant. *Journal of General Plant Pathology*, 90(1), 23–34. <https://doi.org/10.1007/s10327-023-01159-9>
- Obrępańska-Stęplowska, A., Renaut, J., Planchon, S., Przybylska, A., Wieczorek, P., Barylski, J., & Palukaitis, P. (2015). Effect of temperature on the pathogenesis, accumulation of viral and satellite RNAs and on plant proteome in peanut stunt virus and satellite RNA-infected plants. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00903>
- Oliver, R. (2024). *Agrios' Plant Pathology* (6th Edition). <https://shop.elsevier.com/books/agrios-plant-pathology/oliver/978-0-12-822429-8>
- Page, A., Gibson, J., Meyer, R. S., & Chapman, M. A. (2019). Eggplant Domestication: Pervasive Gene Flow, Feralization, and Transcriptomic Divergence. *Molecular Biology and Evolution*, 36(7), 1359–1372. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz062>
- Panno, S., Ruiz-Ruiz, S., Caruso, A. G., Alfaro-Fernandez, A., Ambrosio, M. I. F. S., & Davino, S. (2019). Real-time reverse transcription polymerase chain reaction development for rapid detection of Tomato brown rugose fruit virus and comparison with other techniques. *PeerJ*, 7, e7928. <https://doi.org/10.7717/peerj.7928>
- Topcu, Y., Yildiz, K., Kayikci, H. C., Aydin, S., Feng, Q., & Sapkota, M. (2025). Deciphering resistance to Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) using

Genome-Wide Association Studies. *Scientia Horticulturae*, 341, 113968.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.113968>

Yan, Z., Zhao, M., Ma, H., Liu, L., Yang, G., Geng, C., Tian, Y., & Li, X. (2021). Biological and molecular characterization of tomato brown rugose fruit virus and development of quadruplex RT-PCR detection. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(7), 1871–1879. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63275-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63275-0)

Zamora, E. J., Ochoa-Martínez Daniel Leobardo, Chavarín-Camacho Claudia Yaritza, Rosemarie W. Hammond, & Aviña-Padilla Katia. (2025). *Host-Specific Adaptations and Global Transmission Potential of a Mexican ToBRFV Isolate: Insights from Genomic Analysis* (p. 2025.01.08.631997). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2025.01.08.631997>

Zheng, X., Li, Y., & Liu, Y. (2024). Plant Immunity against Tobamoviruses. *Viruses*, 16(4), 530. <https://doi.org/10.3390/v16040530>

Zhou, J., Gilliard, A., Tung, J., Dinesh-Kumar, S. P., Whitham, S. A., Baker, B., & Ling, K. (2025). The *N* gene protects tomato plants from tomato brown rugose fruit virus infection. *Plant Biotechnology Journal*, pbi.70237. <https://doi.org/10.1111/pbi.70237>

APÉNDICES

Apéndice A. Síntomas obtenidos en la caracterización biológica

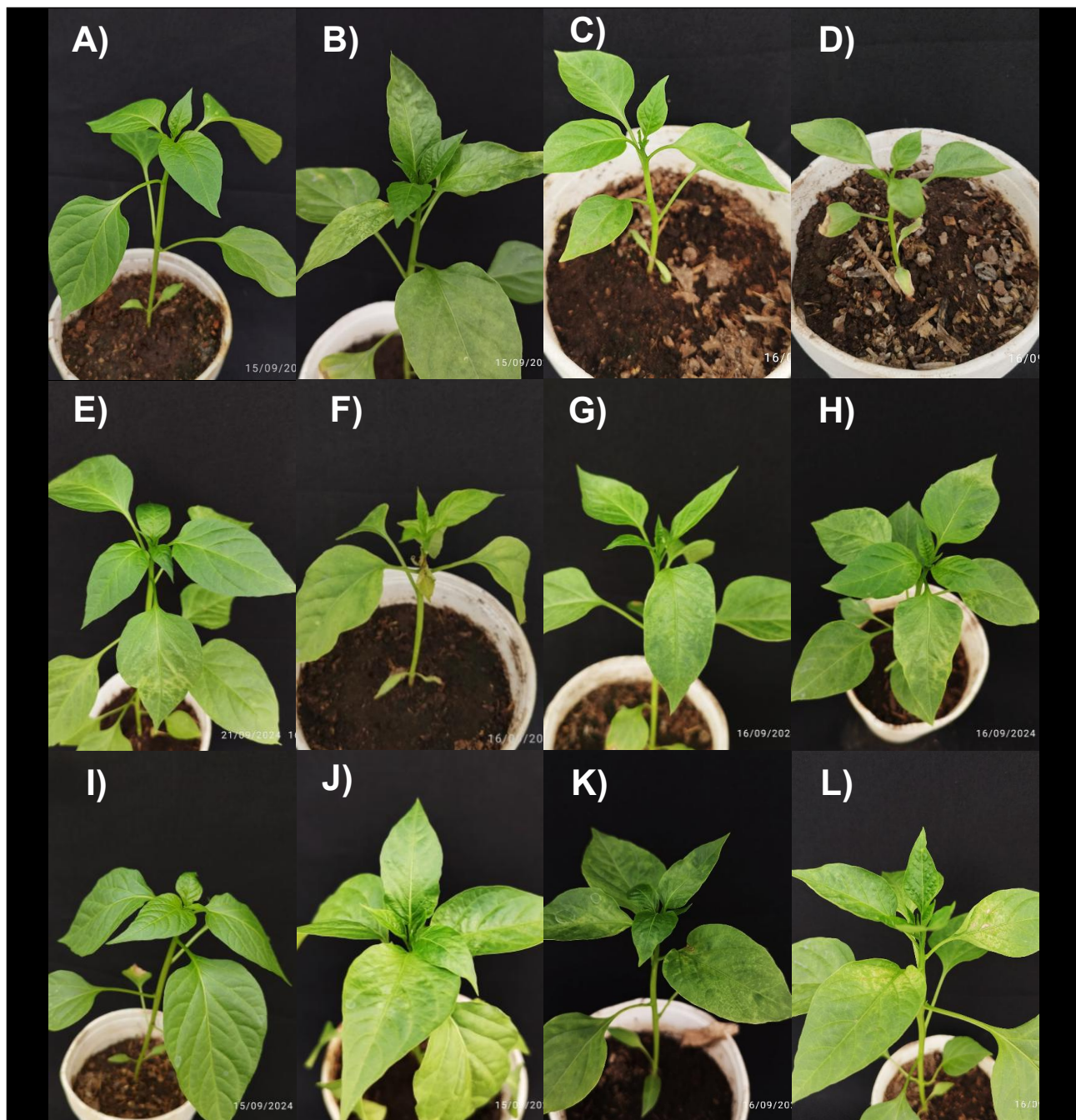


Figura 47. Síntomas obtenidos en plantas de *Capsicum annuum* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

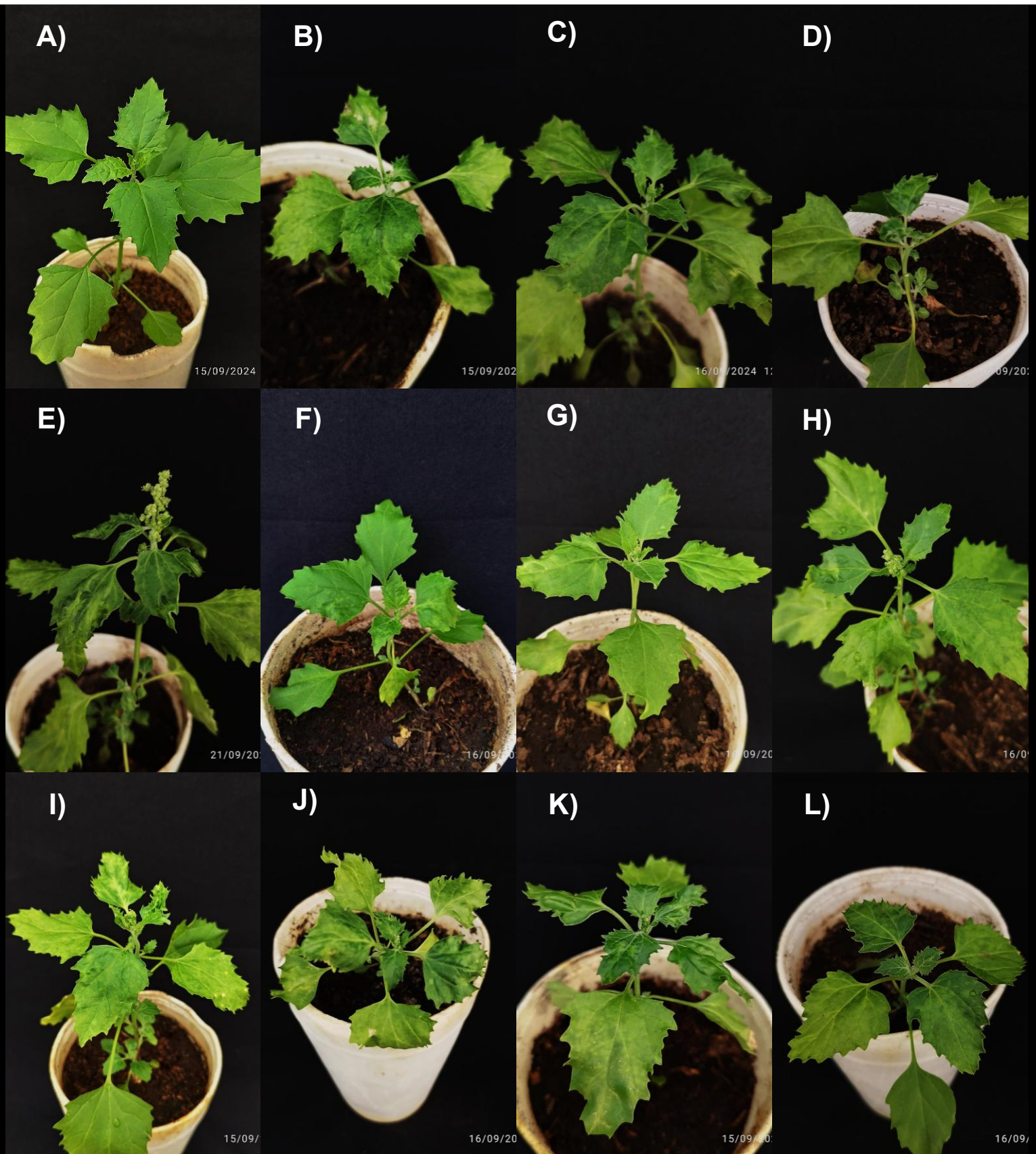


Figura 48. Síntomas obtenidos en plantas de *Chenopodium album* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

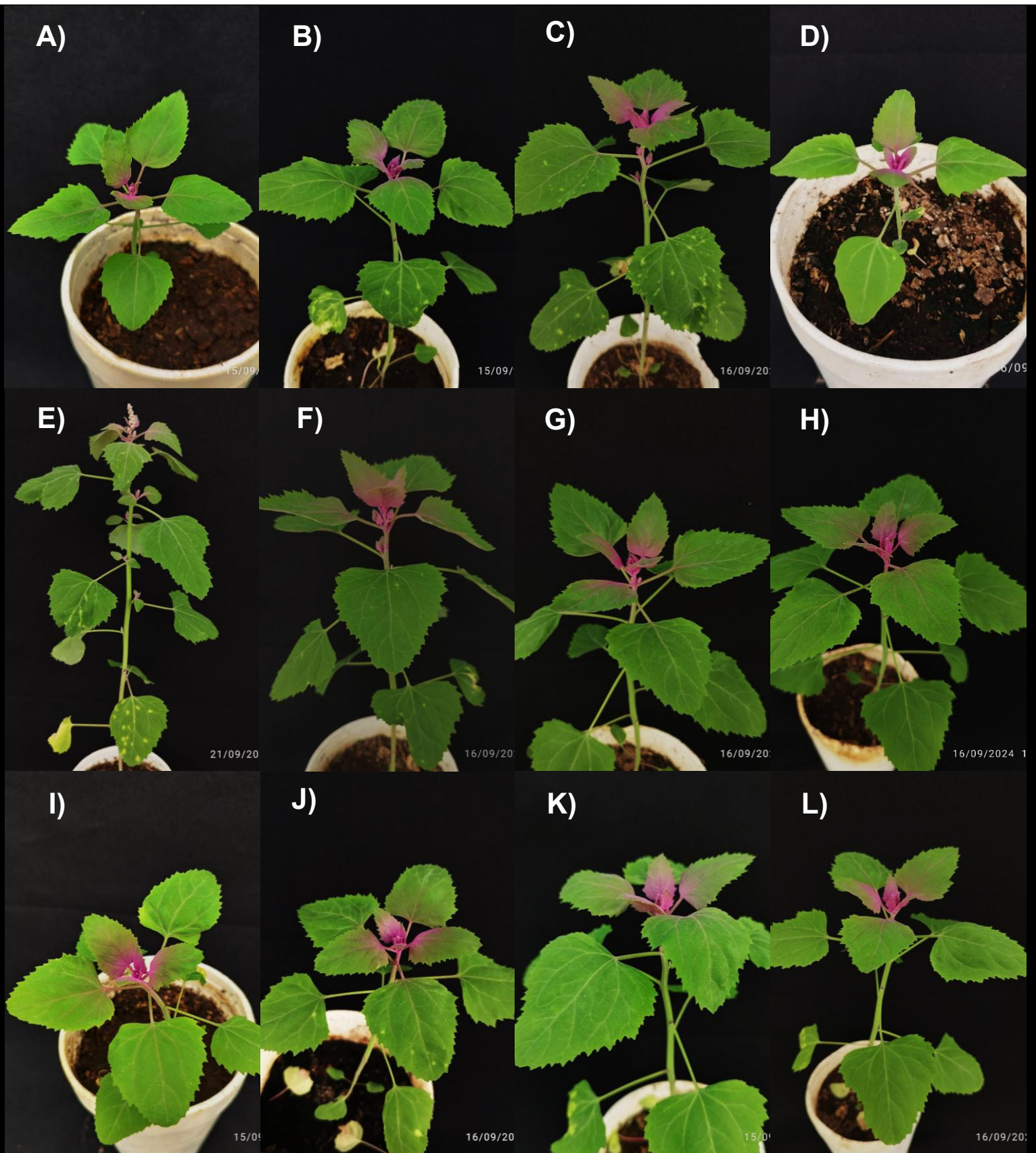


Figura 49. Síntomas obtenidos en plantas de *Chenopodium amaranticolor* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

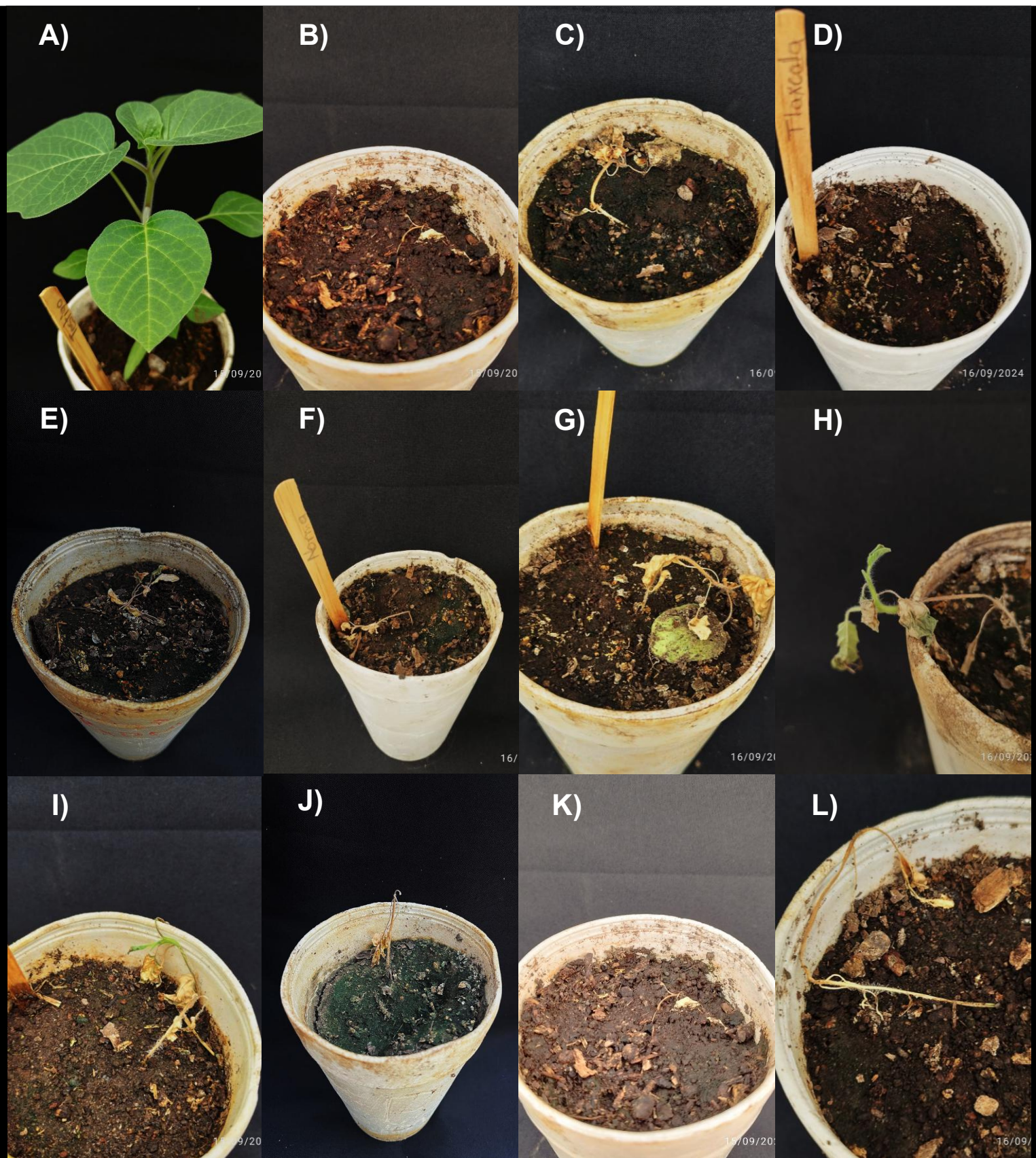


Figura 50. Síntomas obtenidos en plantas de *Datura metel* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.



Figura 51. Síntomas obtenidos en plantas de *Datura stramonium* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

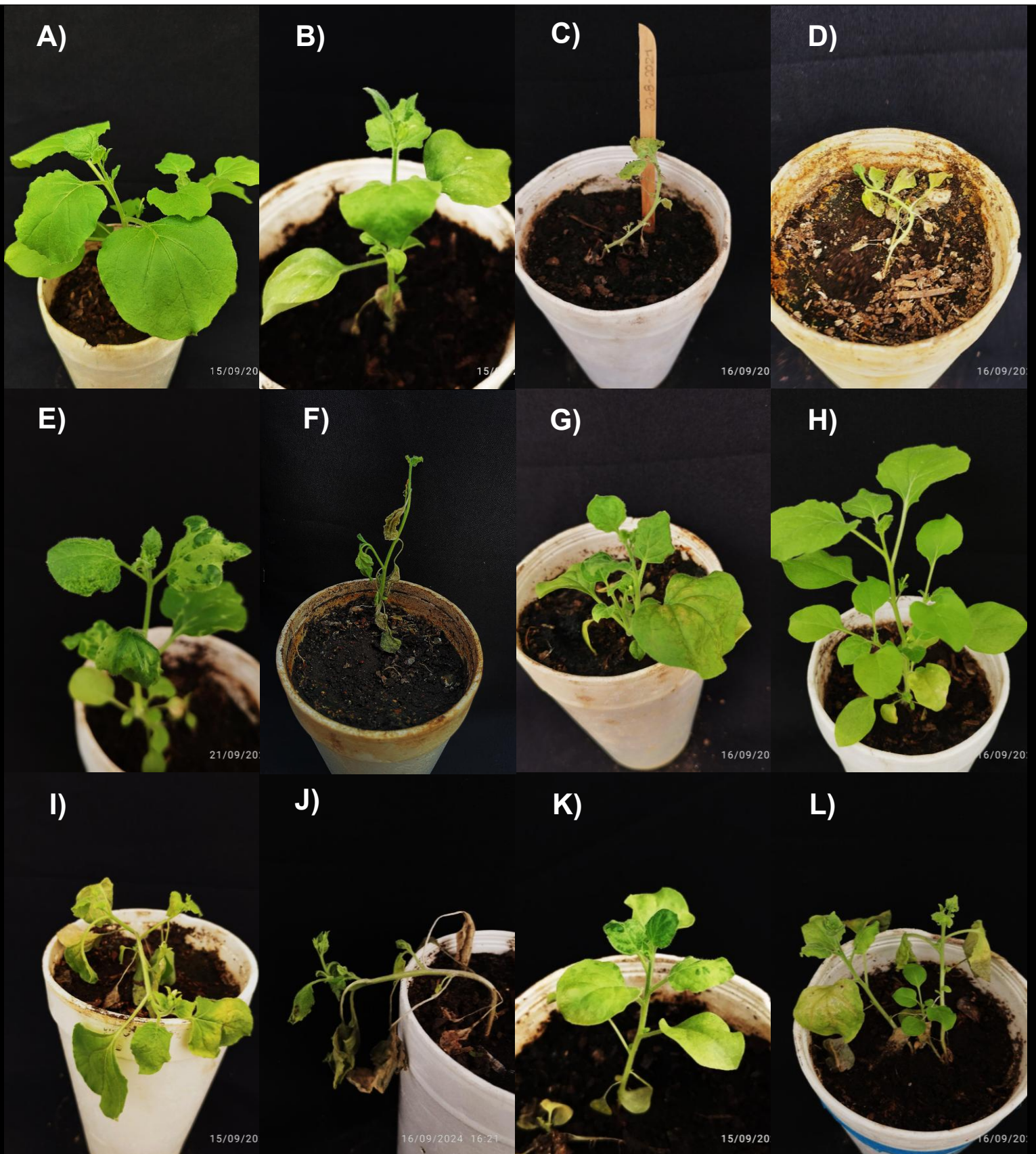


Figura 52. Síntomas obtenidos en plantas de *Nicotiana benthamiana* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

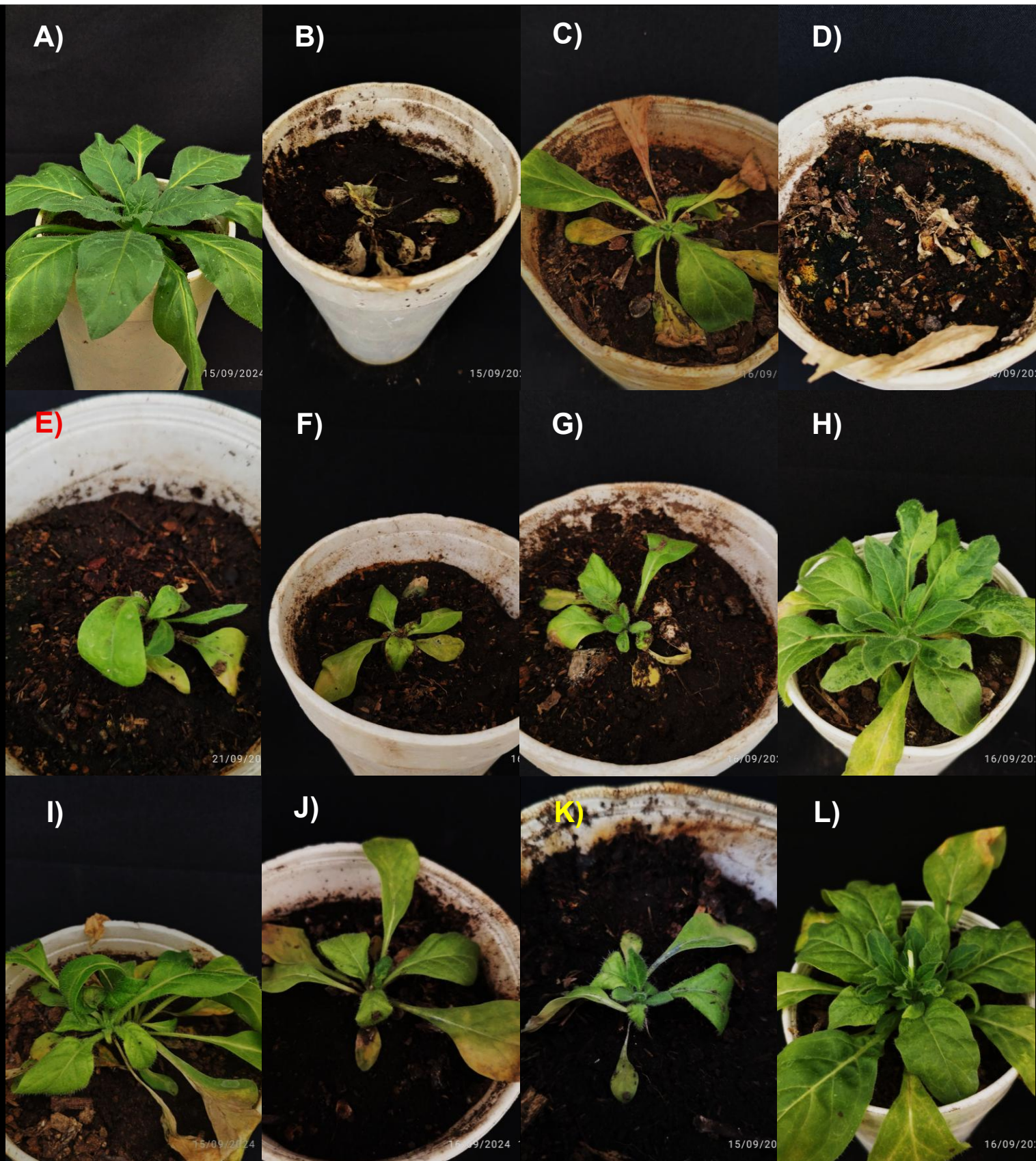


Figura 53. Síntomas obtenidos en plantas de *Nicotiana clelandii* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

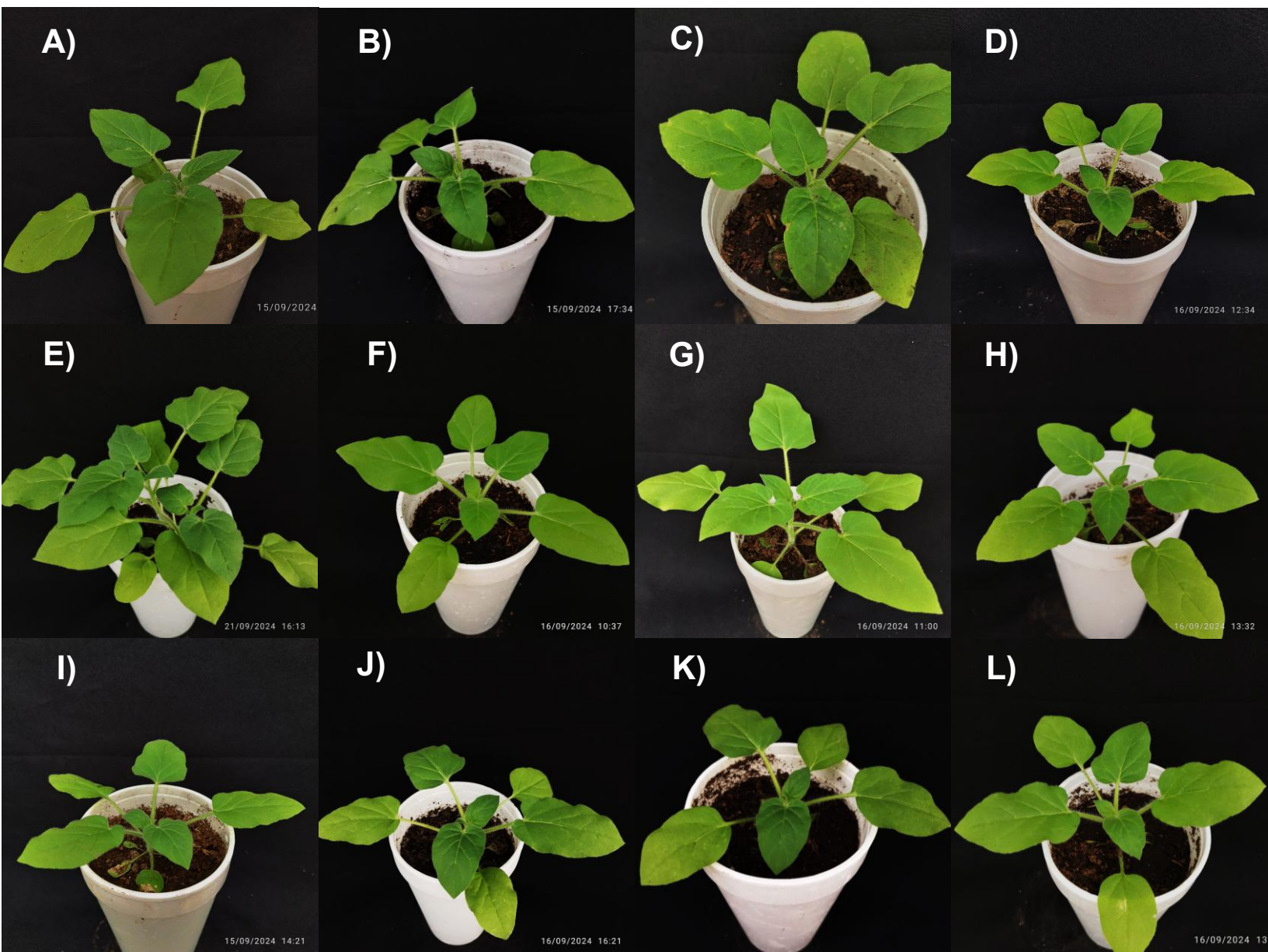


Figura 54. Síntomas obtenidos en plantas de *Nicotiana glutinosa* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

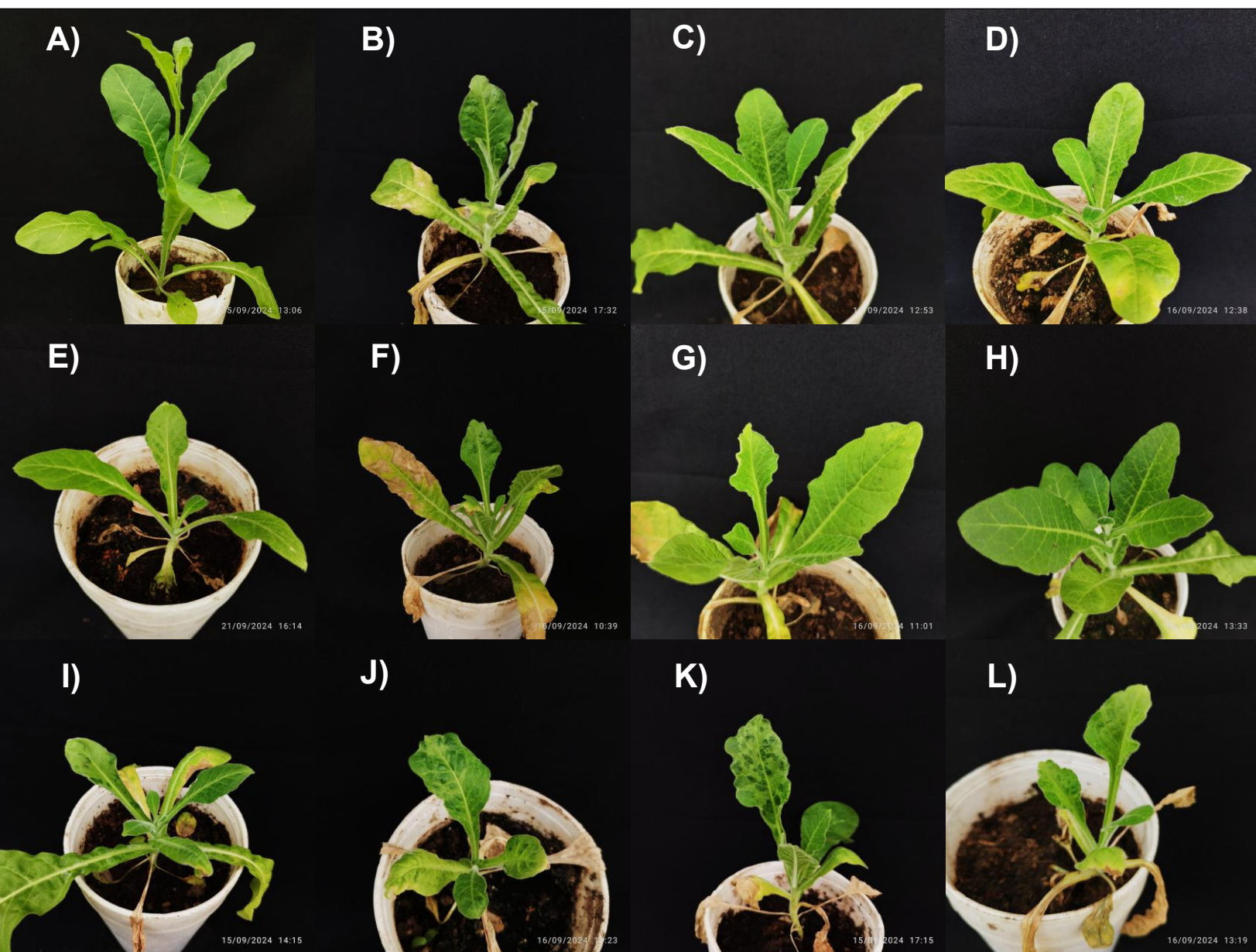


Figura 55. Síntomas obtenidos en plantas de *Nicotiana occidentalis* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

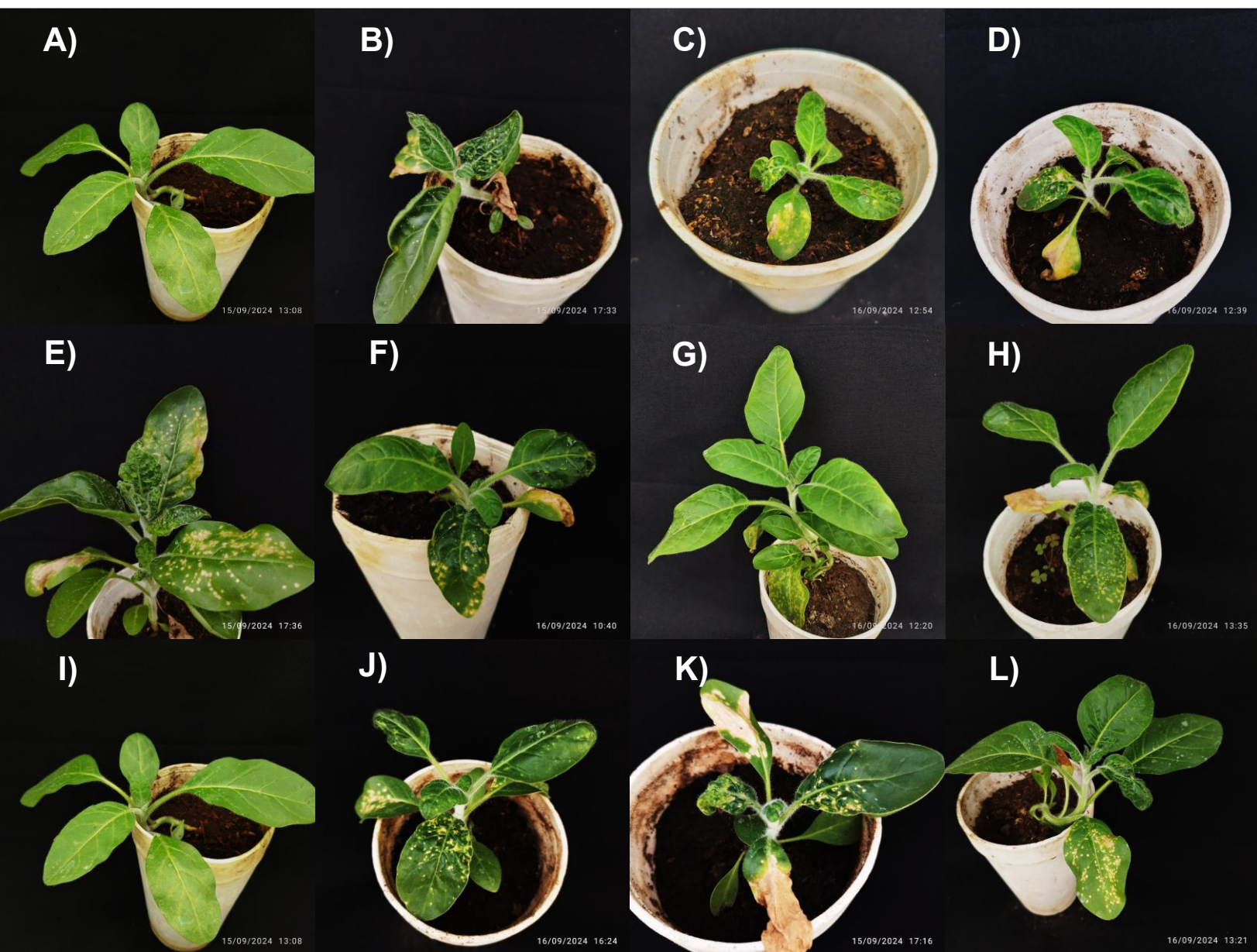


Figura 56. Síntomas obtenidos en plantas de *Nicotiana rustica* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

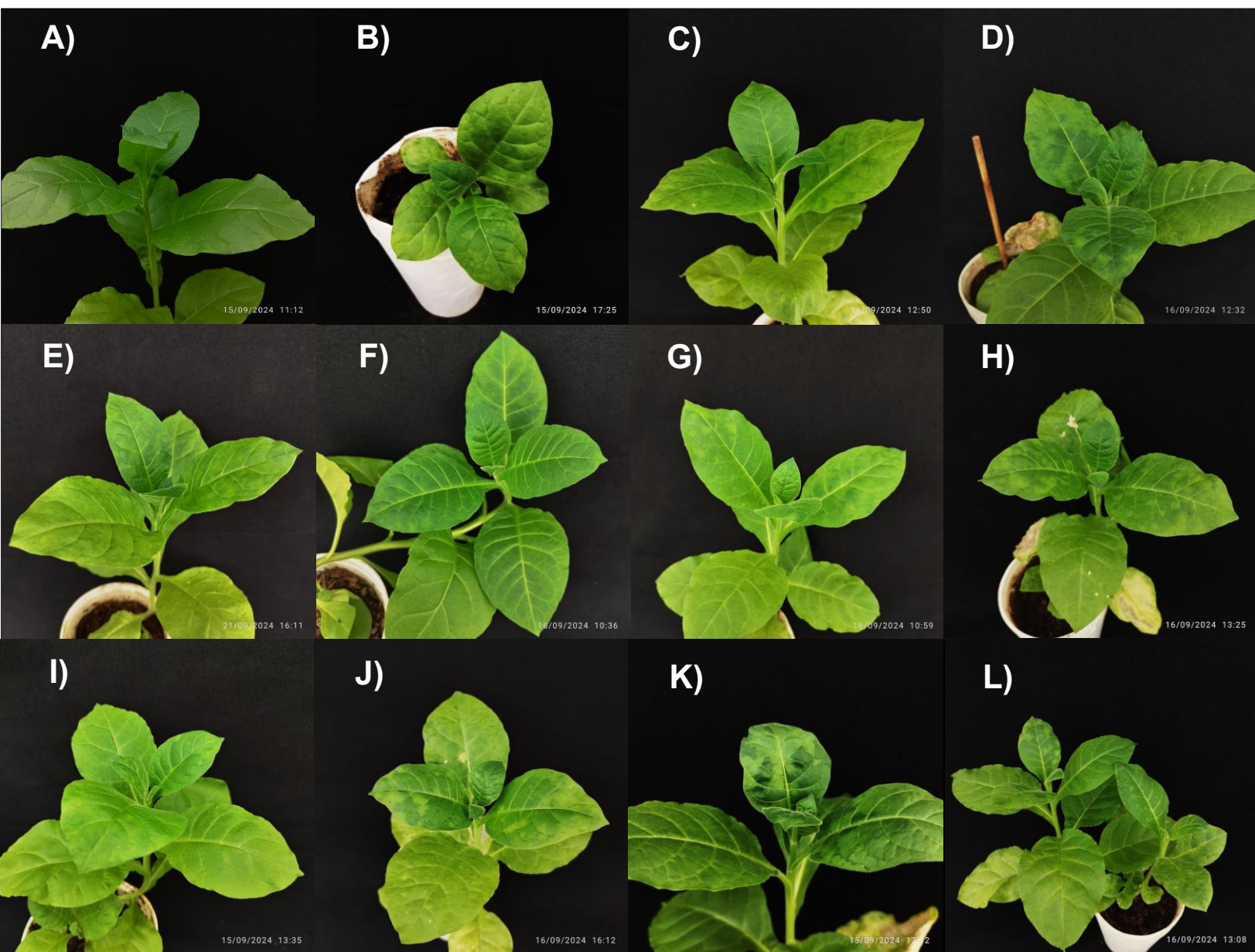


Figura 57. Síntomas obtenidos en plantas de *Nicotiana tabacum* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

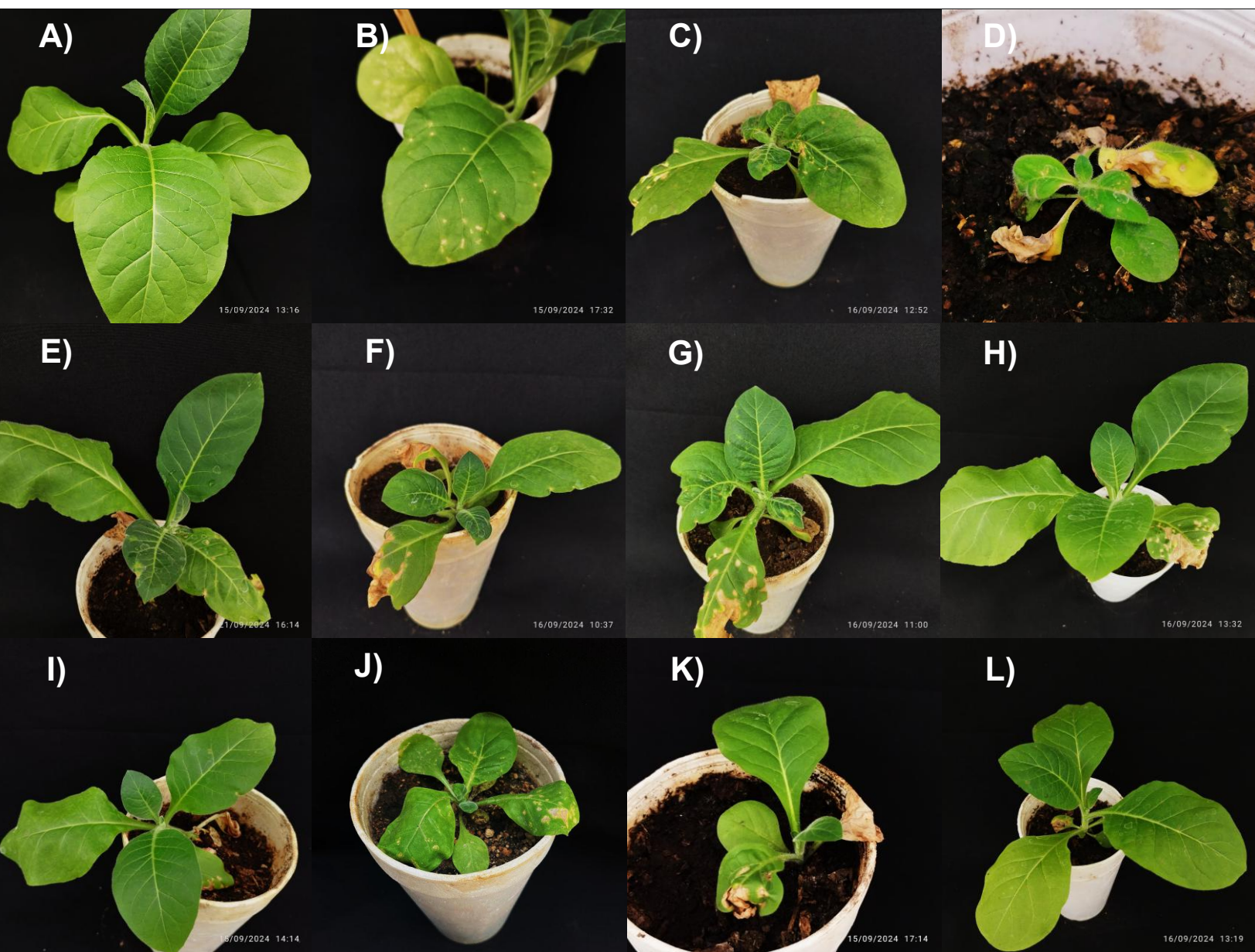


Figura 58. Síntomas obtenidos en plantas de *Nicotiana virginia* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

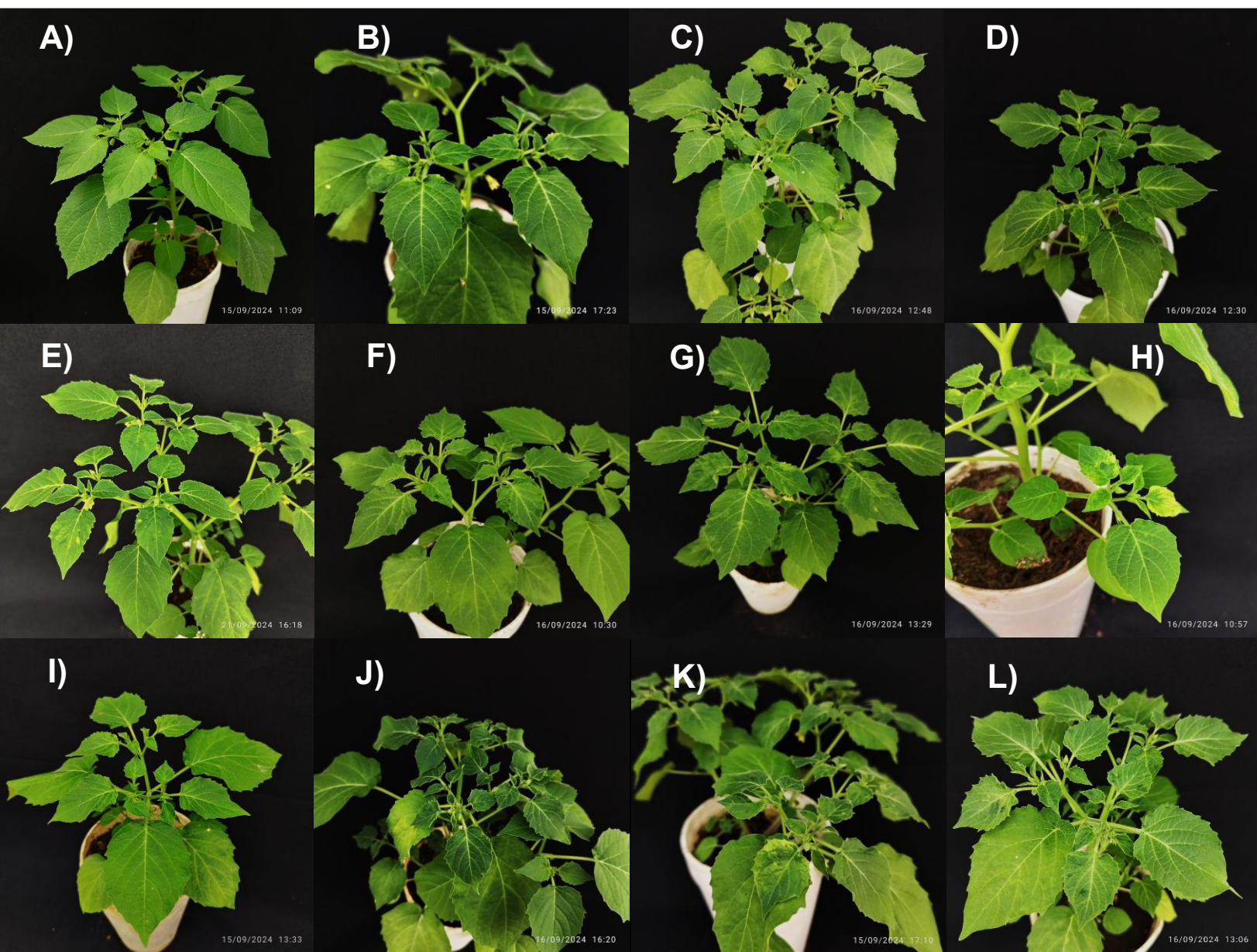


Figura 59. Síntomas obtenidos en plantas de *Physalis floridana* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

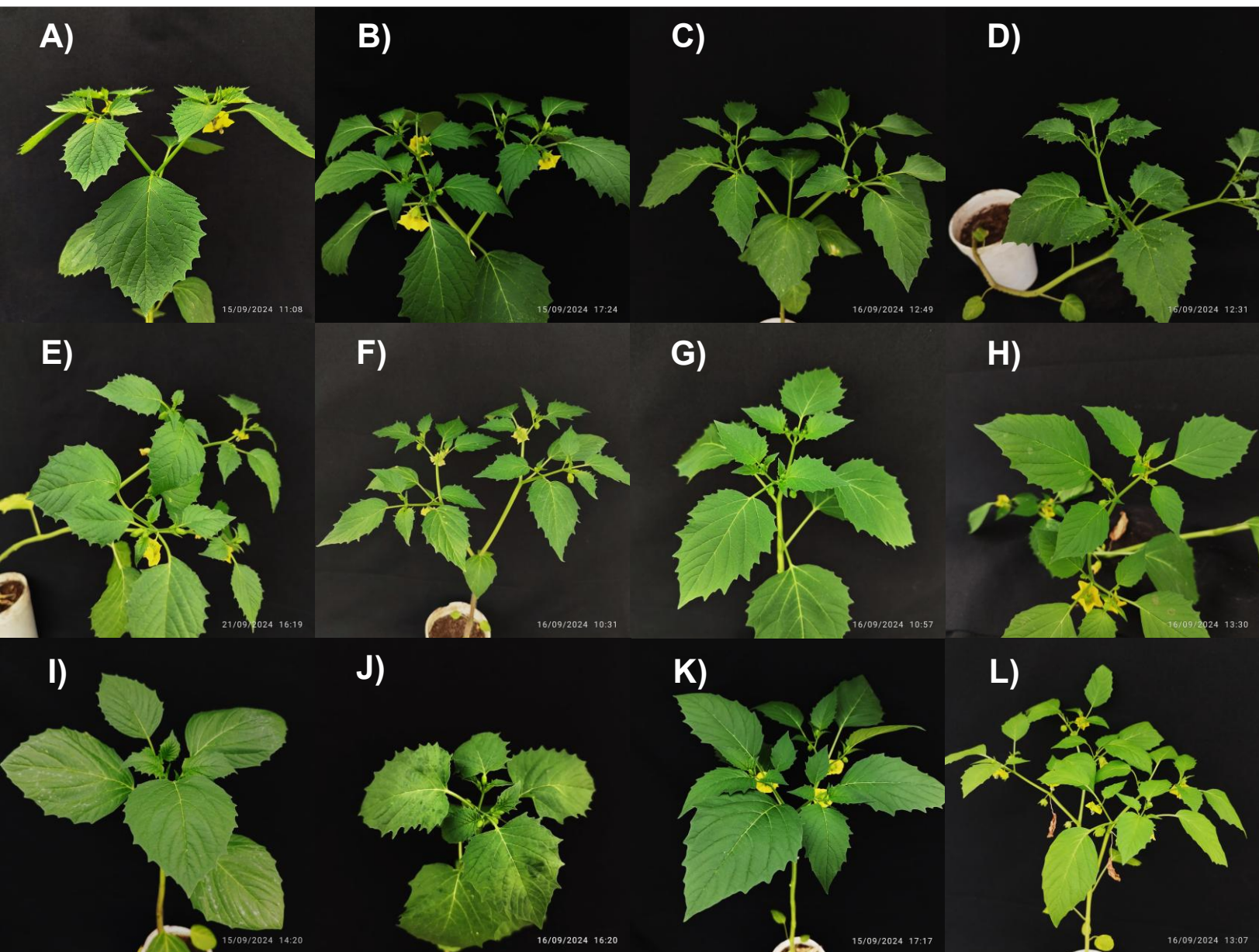


Figura 60. Síntomas obtenidos en plantas de *Physalis philadelphica* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

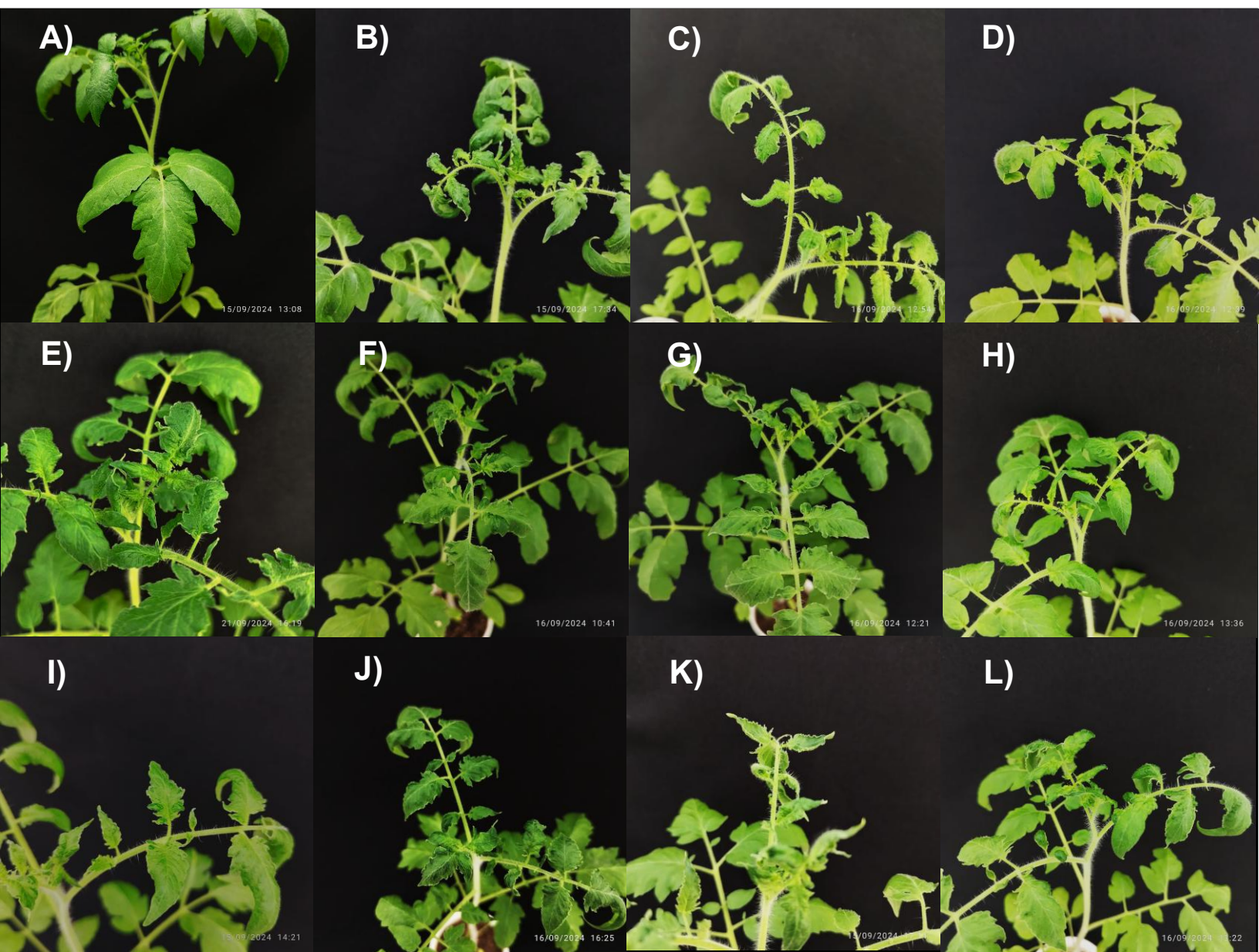


Figura 61. Síntomas obtenidos en plantas de *Solanum lycopersicum* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

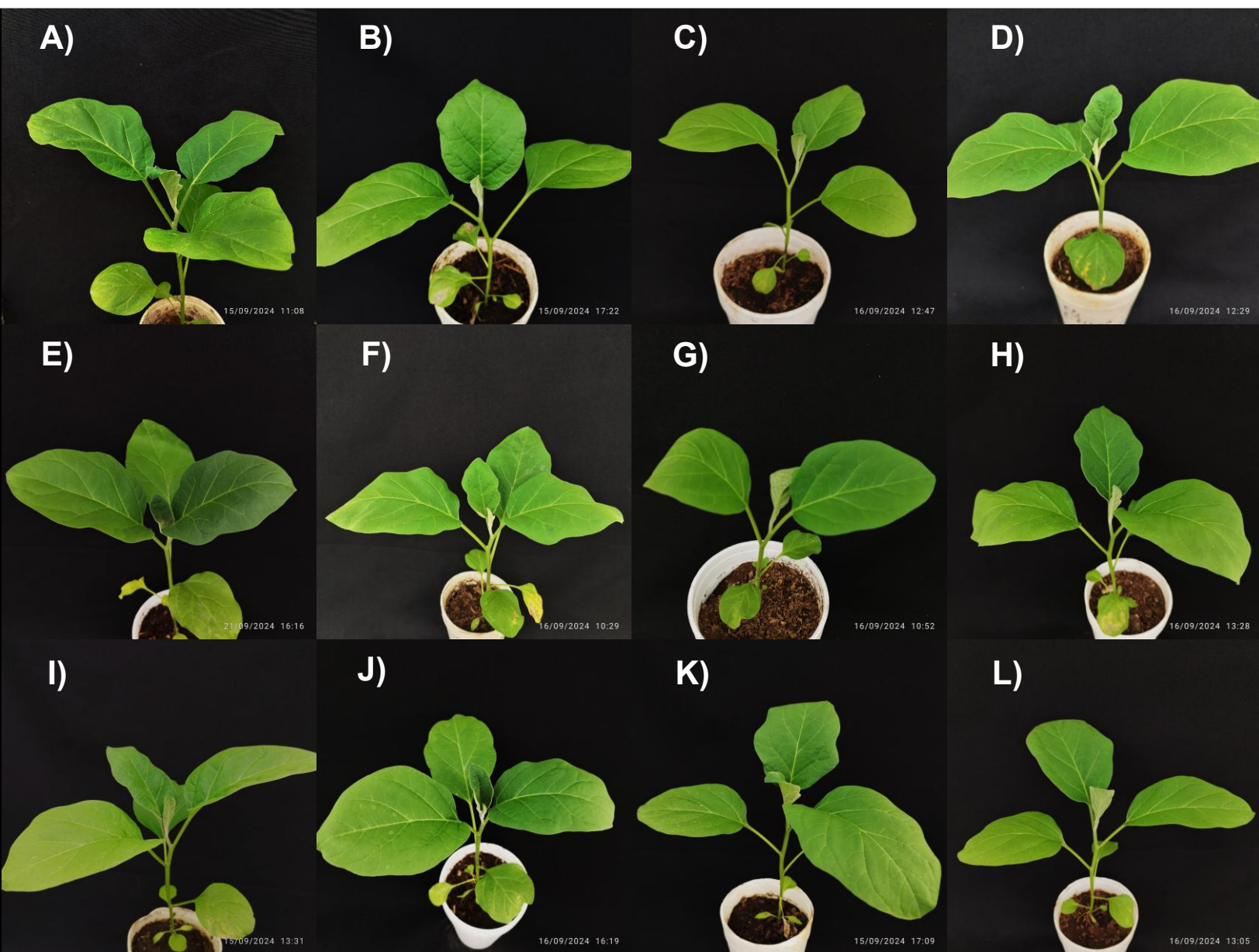


Figura 62. Síntomas obtenidos en plantas de *Solanum melongena* posterior a la inoculación con 11 fuentes de infección de *T. fructirugosum*. A) TEST; B) MOR; C) MAE; D) TLAX; E) XCH; F) MICH; G) OAX; H) SIN; I) ZAC; J) QRO; K) ZAC_SE; y L) SLP.

Apéndice B. Curvas de amplificación mediante qPCR para muestras de *S. lycopersicum*, *C. annuum* *N. occidentalis*, para distintas fuentes de infección.

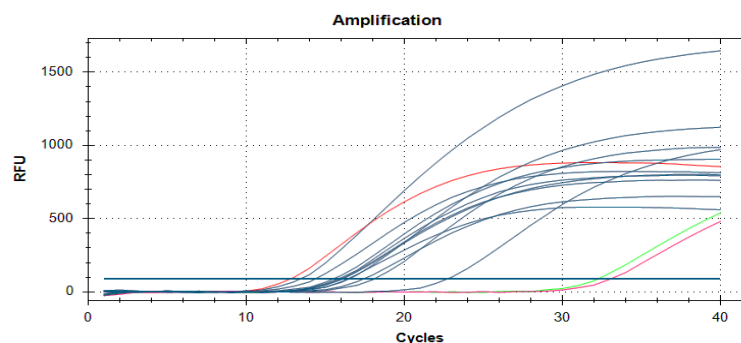


Figura 63. Curvas de amplificación obtenidas mediante qPCR para la evaluación de las fuentes de infección en plantas de *S. lycopersicum*. La fluorescencia relativa (RFU) se registró a lo largo de 40 ciclos de amplificación. El control positivo se muestra en rojo; el control negativo en verde; y el Control sin cDNA molde (NTC). Las curvas en azul corresponden a las muestras evaluadas.

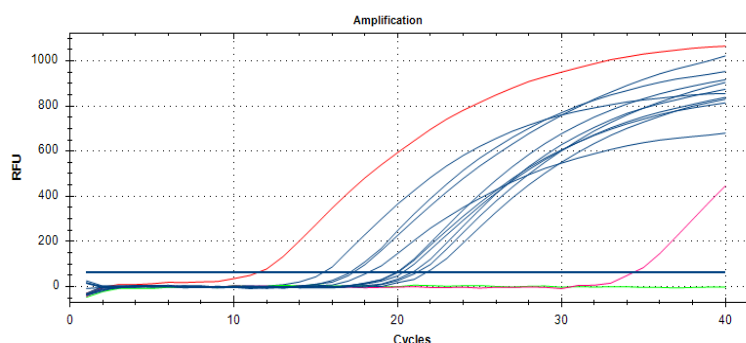


Figura 64. Curvas de amplificación obtenidas mediante qPCR para la evaluación de las fuentes de infección en plantas de *C. annuum*. La fluorescencia relativa (RFU) se registró a lo largo de 40 ciclos de amplificación. El control positivo se muestra en rojo; el control negativo en verde; y el Control sin cDNA molde (NTC). Las curvas en azul corresponden a las muestras evaluadas.

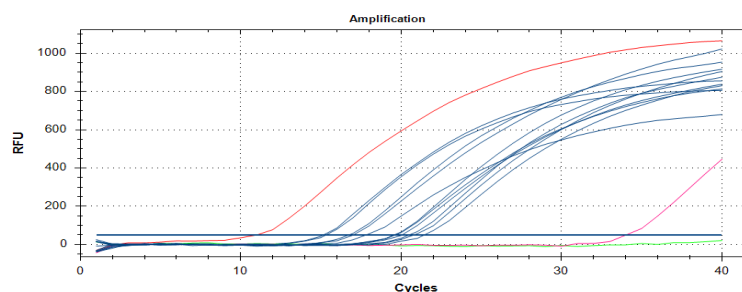


Figura 65. Curvas de amplificación obtenidas mediante qPCR para la evaluación de las fuentes de infección en plantas de *N. occidentalis*. La fluorescencia relativa (RFU) se registró a lo largo de 40 ciclos de amplificación. El control positivo se muestra en rojo; el control negativo en verde; y el Control sin cDNA molde (NTC). Las curvas en azul corresponden a las muestras evaluadas.

Apéndice C. Temperaturas imperantes sobre los ensayos en *S. melongena*

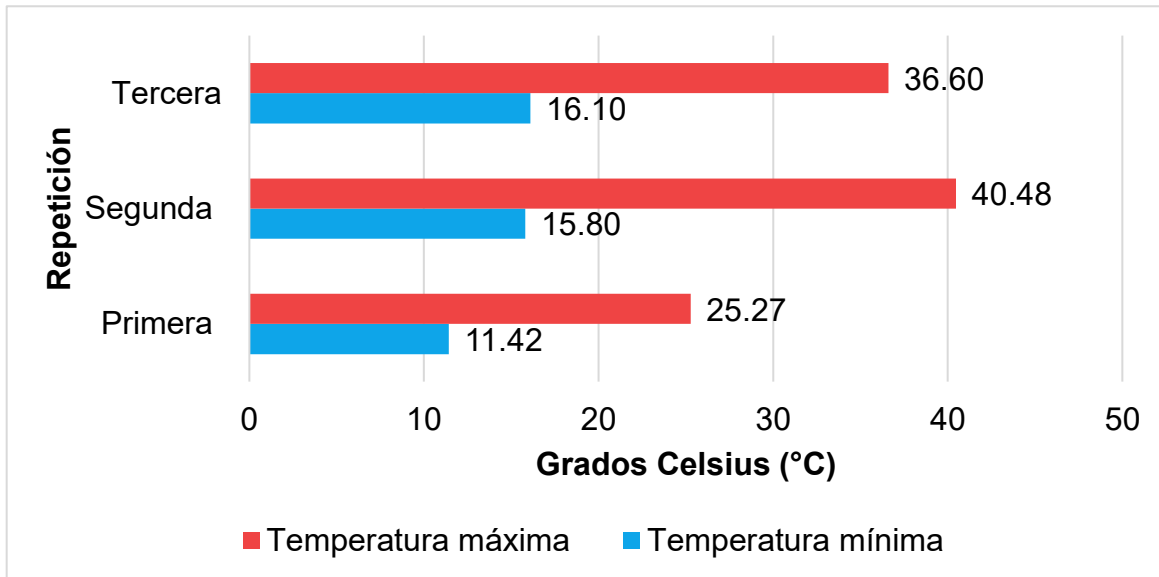


Figura 66. Registros promedio de temperaturas máximas y mínimas imperantes durante los ensayos en *S. melongena*.

Apéndice D. Síntomas registrados en los ensayos en *S. melongena*

Ensayo dos

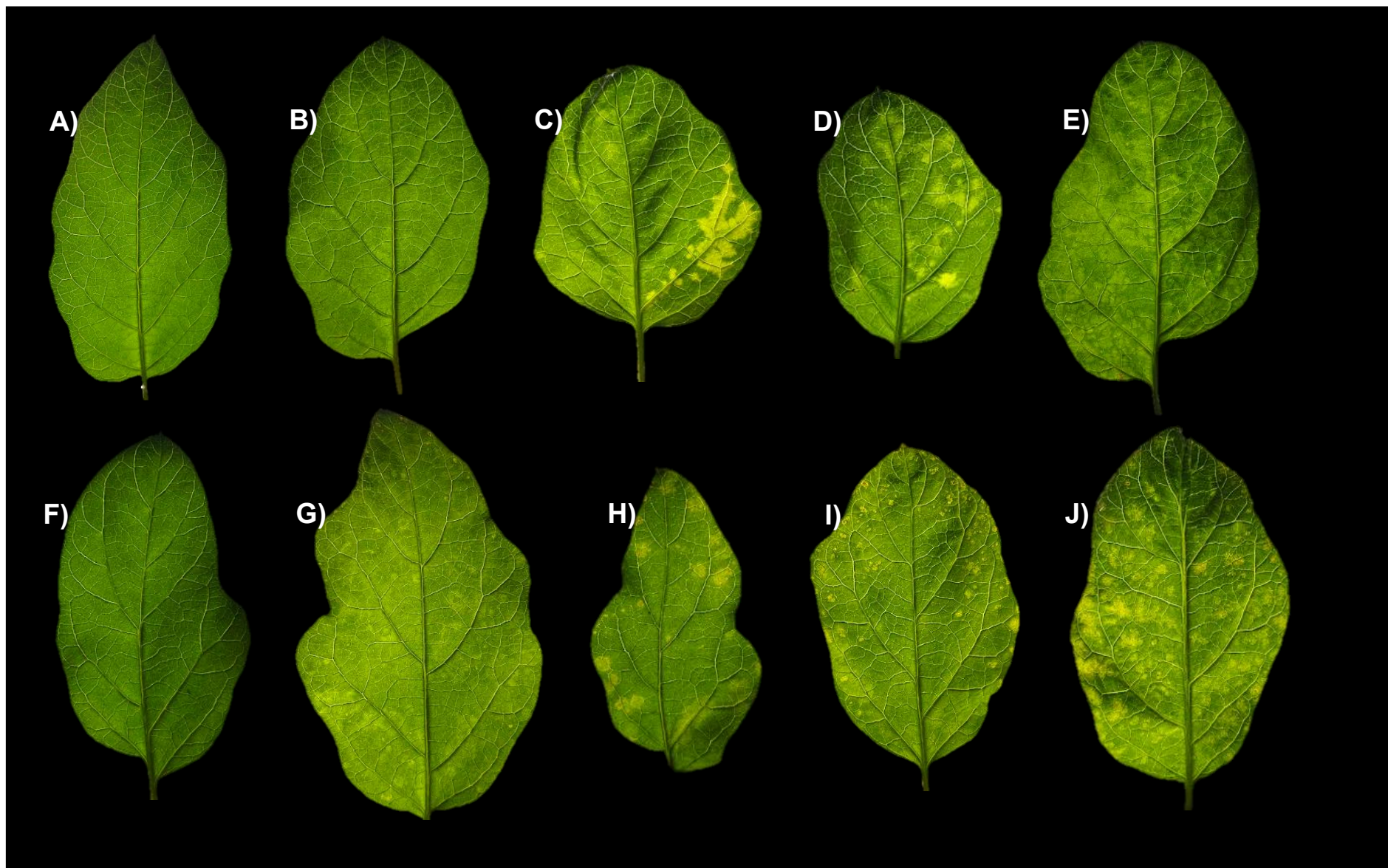


Figura 67. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 1: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.

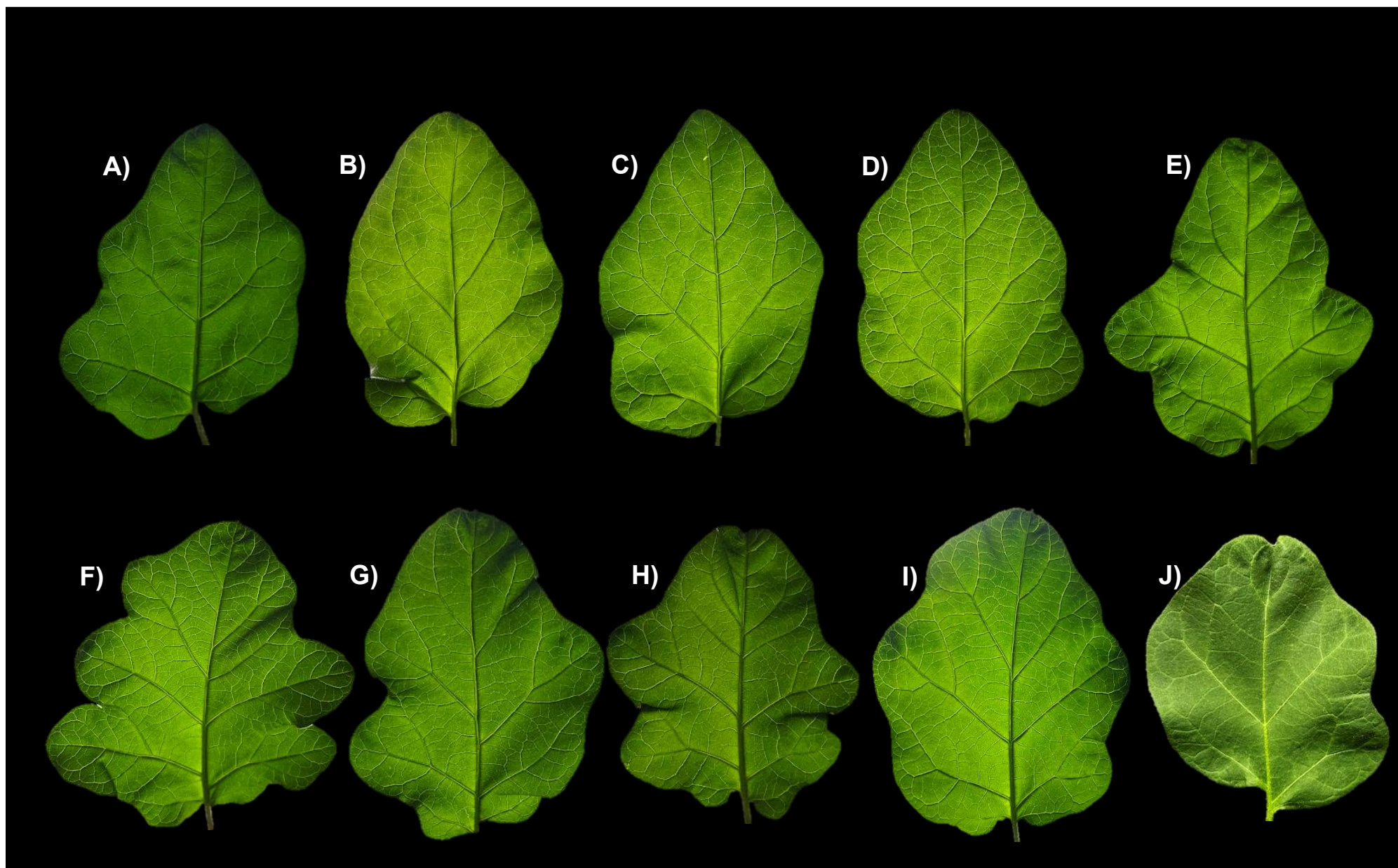


Figura 68. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 2: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.

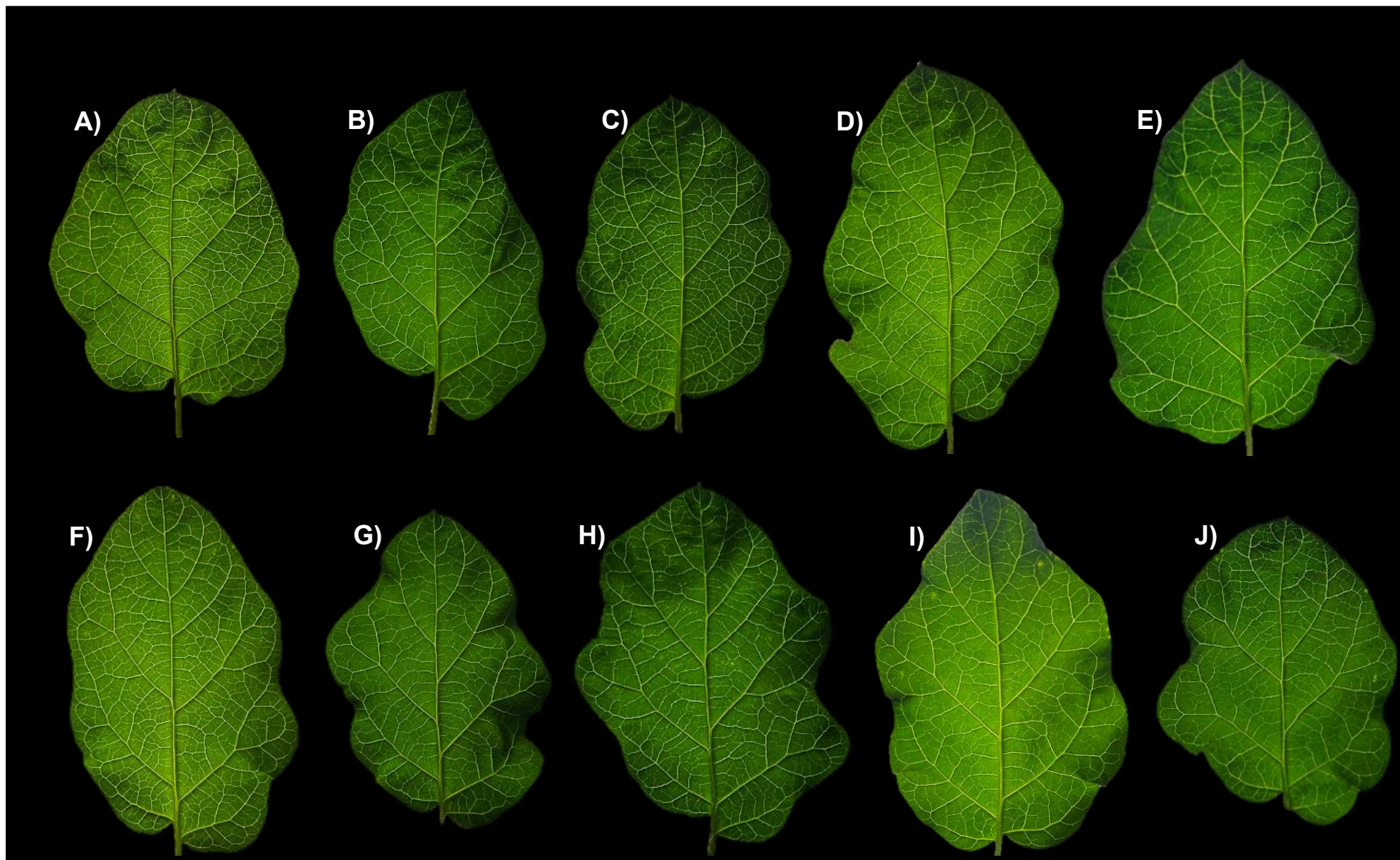


Figura 69. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 3: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.

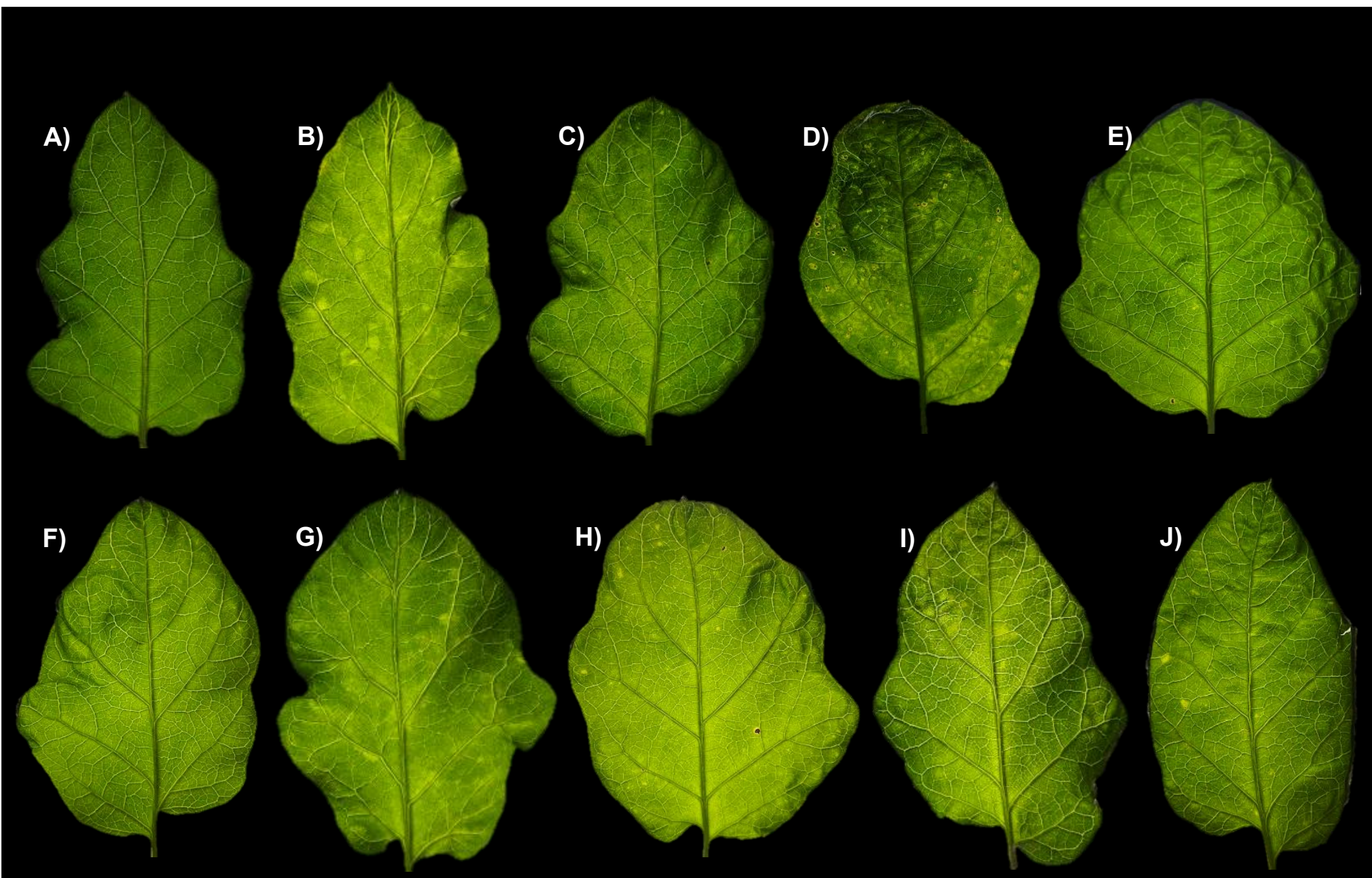


Figura 70. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 4: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.

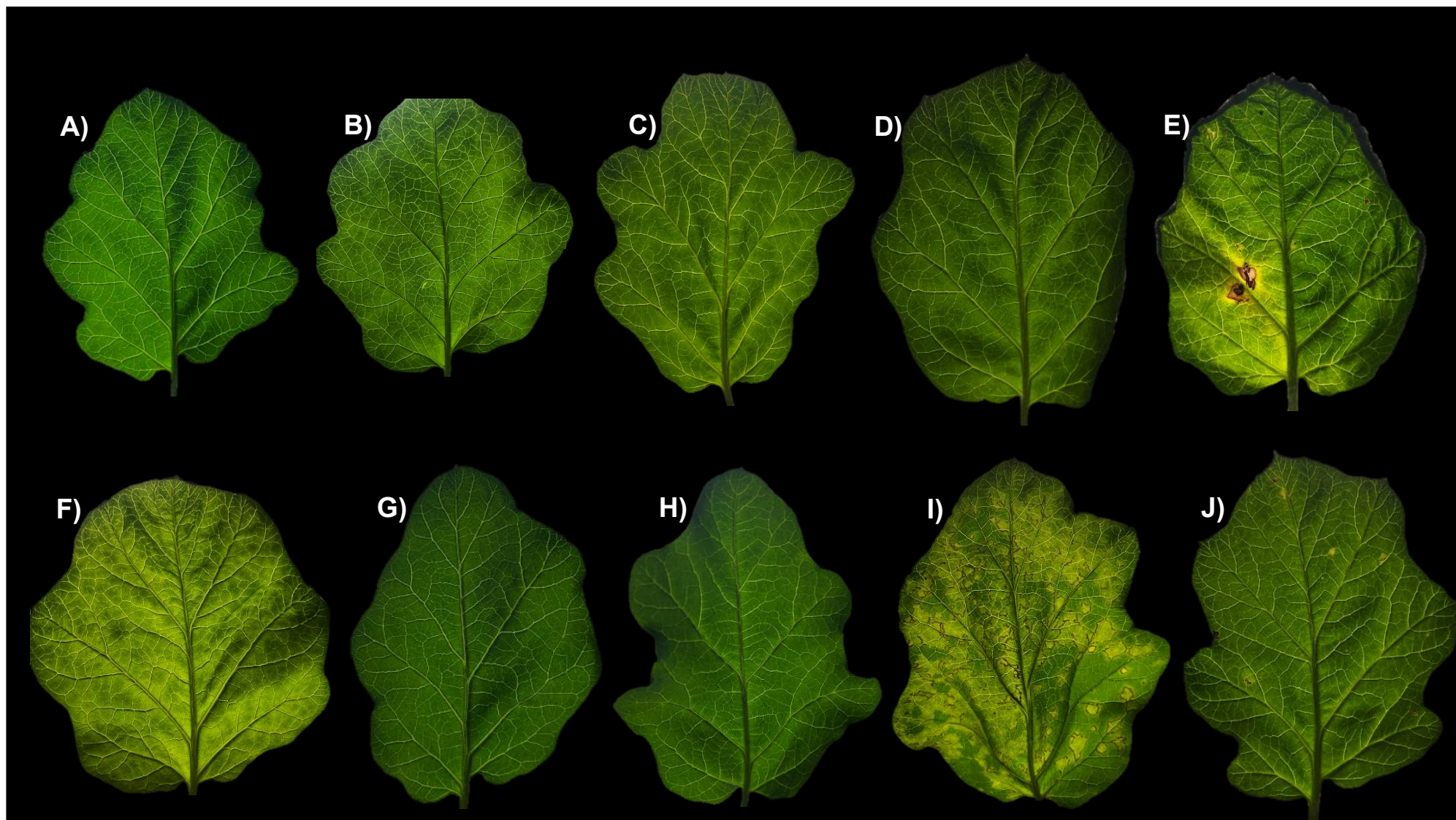


Figura 71. Respuesta de diferentes fuentes de infección en plantas de la variedad 5: A) TEST; B) MAE; C) MOR; D) OAX; E) QRO; F) SIN; G) SLP; H) TLAX; I) XCH; J) ZAC_SE.

Ensayo tres

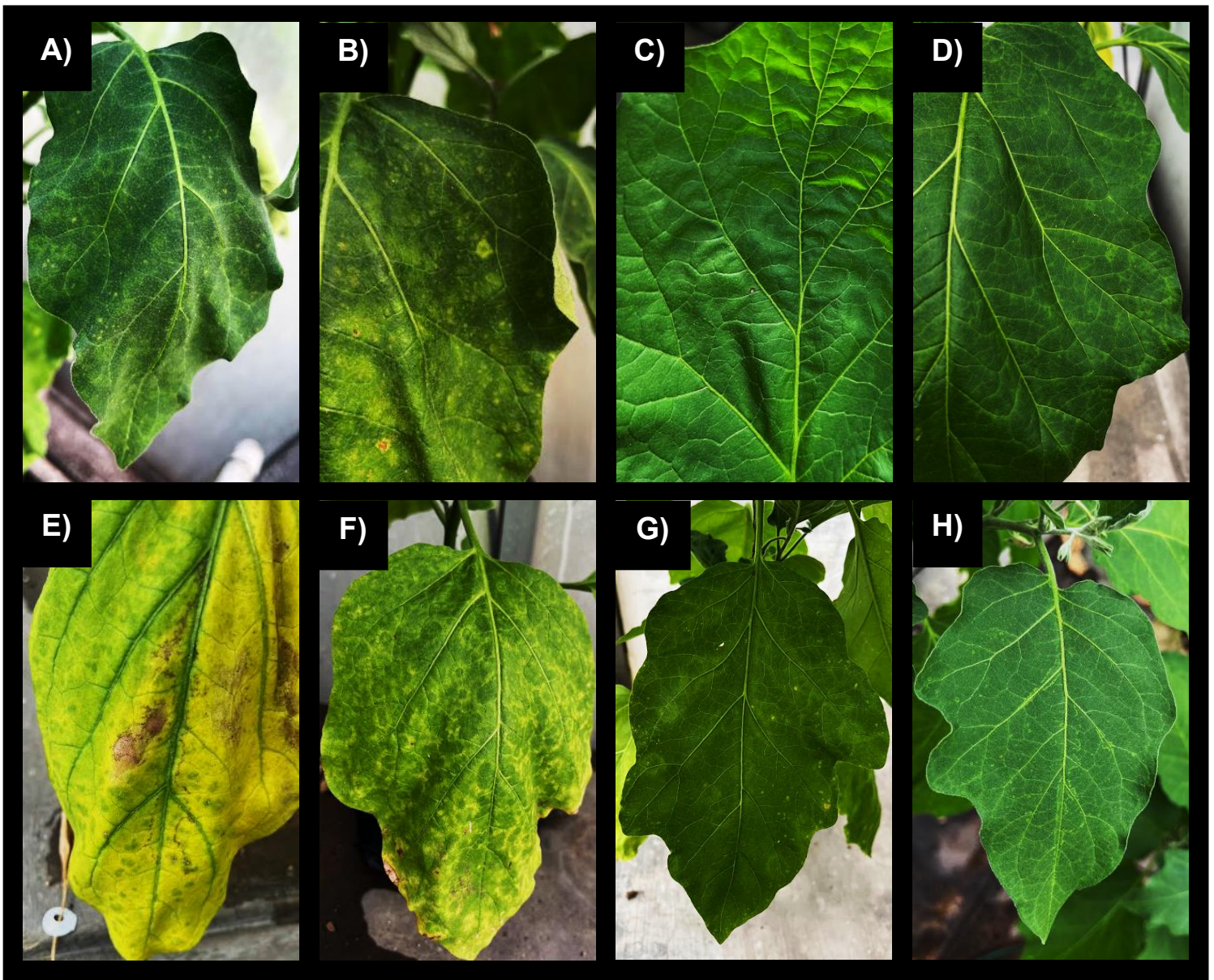


Figura 72. Síntomas obtenidos en diversas variedades en respuesta de diferentes fuentes de infección. A) variedad 5 x TLAX; **B)** variedad 5 x MICH; **C)** variedad 5 x SIN; **D)** variedad 1 x TLAX; **E)** variedad 1 x MOR; **F)** variedad 1 x MICH; **G)** variedad 4 x MICH; y **H)** variedad 4 x SLP.

Apéndice E. Comparaciones de medias de los ensayos dos y tres en *S. melongena*

Bioensayo dos

Análisis de medias del efecto de las fuentes de infección

Cuadro 23. Valores promedio de la biomasa seca de las plantas inoculadas con las fuentes de infección evaluadas.

Fuentes de infección	Peso en seco (g)
TEST	33.324 a [†]
TLAX	22.405 b
OAX	21.130 cb
QRO	20.940 cb
SLP	20.403 cb
XCH	19.966 cb
MOR	19.771 cb
SIN	18.957 cb
MAE	18.943 cb
ZAC_SE	17.370 c
DSH*	4.1887
Prob.**	0.0001

[†]Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes en base a la prueba de Tukey (p=0.05); *Diferencia significativa honesta de Tukey; **Probabilidad de error en el Análisis de Varianza.

Análisis de medias del efecto de las variedades de S. melongena

Cuadro 24. Valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas de las variedades evaluadas.

Variedad	Peso en seco
Variedad 2 – Black Beuty	23.6658 a [†]
Variedad 5 – Listada de Gandía	23.5913 a
Variedad 3 – Asiática	22.1565 a
Variedad 1 – Larga Blanca	19.3197 b
Variedad 4 – Larga violeta	16.7327 c
DSH*	2.5549
Prob.**	0.0001

[†]Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes en base a la prueba de Tukey (p=0.05); *Diferencia significativa honesta de Tukey; *Diferencia significativa honesta de Tukey; **Probabilidad de error.

***Análisis de medias del efecto de la interacción fuente de infección-
variedad***

Cuadro 25. Valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas por variedad con su interacción con la fuente de infección.

Fuente	Variedad	Peso seco
TEST	Variedad 3 - asiática	43.27250 a†
TEST	Variedad 5 – Listada de Gandía	36.18333 ab
TEST	Variedad 2 – Black Beuty	34.54200 abc
TEST	Variedad 1 – Larga Blanca	32.56833 abcd
TLAX	Variedad 3 - asiática	28.58600 bcde
OAX	Variedad 2 – Black Beuty	28.23333 bcde
SIN	Variedad 5 – Listada de Gandía	28.21667 bcde
SLP	Variedad 5 – Listada de Gandía	26.56000 bcdef
XCH	Variedad 2 – Black Beuty	26.48000 bcdefg
OAX	Variedad 5 – Listada de Gandía	22.91833 cdefgh
QRO	Variedad 3 - asiática	22.69167 cdefgh
TLAX	Variedad 2 – Black Beuty	22.56000 cdefgh
SLP	Variedad 3 - asiática	22.53000 cdefgh
QRO	Variedad 1 – Larga Blanca	22.37833 cdefgh
QRO	Variedad 1 – Larga Blanca	22.16833 cdefgh
TLAX	Variedad 4 – Larga violeta	22.09000 cdefgh
MAE	Variedad 2 – Black Beuty	21.82500 defgh
TEST	Variedad 4 – Larga violeta	21.62400 defgh
SEED	Variedad 5 – Listada de Gandía	21.27000 defgh
MOR	Variedad 1 – Larga Blanca	21.06000 defgh
MOR	Variedad 2 – Black Beuty	21.05167 defgh
OAX	Variedad 3 - asiática	21.04833 defgh
MOR	Variedad 5 – Listada de Gandía	20.81500 efgh
TLAX	Variedad 5 – Listada de Gandía	20.67833 efgh
SLP	Variedad 3 - asiática	20.48000 efgh
XCH	Variedad 5 – Listada de Gandía	20.43833 efgh
MAE	Variedad 5 – Listada de Gandía	20.15667 efgh
MAE	Variedad 3 - asiática	19.34667 efgh
XCH	Variedad 3 - asiática	19.27000 efgh
SEED	Variedad 2 – Black Beuty	19.15000 efgh
TLAX	Variedad 4 – Larga violeta	19.11333 efgh
SIN	Variedad 2 – Black Beuty	18.71000 efgh
QRO	Variedad 5 – Listada de Gandía	18.67667 efgh
XCH	Variedad 4 – Larga violeta	18.57800 efgh
SIN	Variedad 3 - asiática	18.48500 efgh
MOR	Variedad 3 - asiática	18.40167 efgh
QRO	Variedad 4 – Larga violeta	18.35200 efgh
MAE	Variedad 1 – Larga Blanca	18.09571 efgh
SEED	Variedad 3 - asiática	18.09333 efgh
SLP	Variedad 1 – Larga Blanca	17.61143 efgh

OAX	Variedad 1 – Larga Blanca	17.52143 efgh
MOR	Variedad 4 – Larga violeta	16.82000 efgh
OAX	Variedad 4 – Larga violeta	15.60800 fgh
XCH	Variedad 1 – Larga Blanca	15.56429 fgh
SIN	Variedad 1 – Larga Blanca	15.19143 fgh
MAE	Variedad 4 – Larga violeta	14.73000 fgh
SEED	Variedad 1 – Larga Blanca	14.41714 fgh
SLP	Variedad 4 – Larga violeta	14.28000 gh
SIN	Variedad 4 – Larga violeta	13.92800 h
SEED	Variedad 4 – Larga violeta	13.81800 h
Prob.*		0.0001

†Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes en base a la prueba de Tukey–Kramer; *Probabilidad de error en el Análisis de Varianza

Bioensayo tres

Análisis de medias del efecto de las fuentes de infección

Cuadro 26. Valores promedio de la biomasa seca de las plantas inoculadas con las fuentes de infección evaluadas.

Fuentes de infección	Peso en seco (g)
TEST	54.930 a [†]
SLP	47.441 b
MAE	46.771 bc
MOR	45.596 bc
TLAX	44.887 bc
SIN	40.347 c
DHS*	7.0895
Prob.**	0.0006

[†]Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes en base a la prueba de Tukey (p=0.05); *Diferencia significativa honesta de Tukey;

**Probabilidad de error en el Análisis de Varianza .

Análisis de medias del efecto de las variedades de S. melongena

Cuadro 27. Valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas de las variedades evaluadas.

Variedad	Peso en seco (g)
Variedad 2 - Black Beauty	49.697 a
Variedad 5 - Listada de Gandía	47.783 a
Variedad 1 - Larga Blanca	46.140 ab
Variedad 3 - Asiática	45.873 ab
Variedad 4 - Larga violeta	40.667 b
DHS*	6.472
Prob.**	0.0059

[†]Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes en base a la prueba de Tukey (p=0.05); *Diferencia significativa honesta de Tukey;

**Probabilidad de error en el Análisis de Varianza.

Análisis de medias del efecto de la interacción fuente de infección-variedad

Cuadro 28. Valores promedio de la biomasa seca obtenida de las plantas por variedad con su interacción con la fuente de infección.

Fuente	Variedad	Peso seco
TEST	Variedad 2 - Black Beauty	61.98800 a
TEST	Variedad 5 - Listada de Gandía	59.61000 a
TEST	Variedad 3 - Asiática	58.33500 a
TEST	Variedad 1 - Larga Blanca	54.32250 ab
TLAX	Variedad 2 - Black Beauty	53.46500 ab
SLP	Variedad 2 - Black Beauty	52.33143 ab
SIN	Variedad 3 - Asiática	49.98500 ab
MOR	Variedad 4 - Larga violeta	49.72750 ab
SLP	Variedad 5 - Listada de Gandía	49.34000 ab
MOR	Variedad 1 - Larga Blanca	49.10857 ab
MAE	Variedad 3 - Asiática	48.84000 ab
TLAX	Variedad 5 - Listada de Gandía	48.61667 ab
SLP	Variedad 1 - Larga Blanca	47.66222 ab
MAE	Variedad 2 - Black Beauty	47.44200 ab
MAE	Variedad 1 - Larga Blanca	46.32667 ab
MAE	Variedad 5 - Listada de Gandía	45.76333 ab
MAE	Variedad 4 - Larga violeta	45.55000 ab
MOR	Variedad 5 - Listada de Gandía	44.86667 ab
MOR	Variedad 2 - Black Beauty	44.55167 ab
TLAX	Variedad 4 - Larga violeta	42.06200 ab
SLP	Variedad 3 - Asiática	41.45000 ab
TLAX	Variedad 1 - Larga Blanca	41.31889 ab
SIN	Variedad 1 - Larga Blanca	39.67000 ab
SIN	Variedad 2 - Black Beauty	39.63833 ab
MOR	Variedad 3 - Asiática	39.50000 ab
SIN	Variedad 5 - Listada de Gandía	38.49833 ab
TLAX	Variedad 3 - Asiática	37.98250 ab
SIN	Variedad 4 - Larga violeta	36.06750 ab
SLP	Variedad 4 - Larga violeta	35.61000 ab
TEST	Variedad 4 - Larga violeta	30.88333 b
Prob.*		0.0091

†Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes en base a la prueba de Tukey–Kramer; *Probabilidad de error en el Análisis de Varianza.

Apéndice F. Representación esquemática de la dilución progresiva de ácidos nucleicos

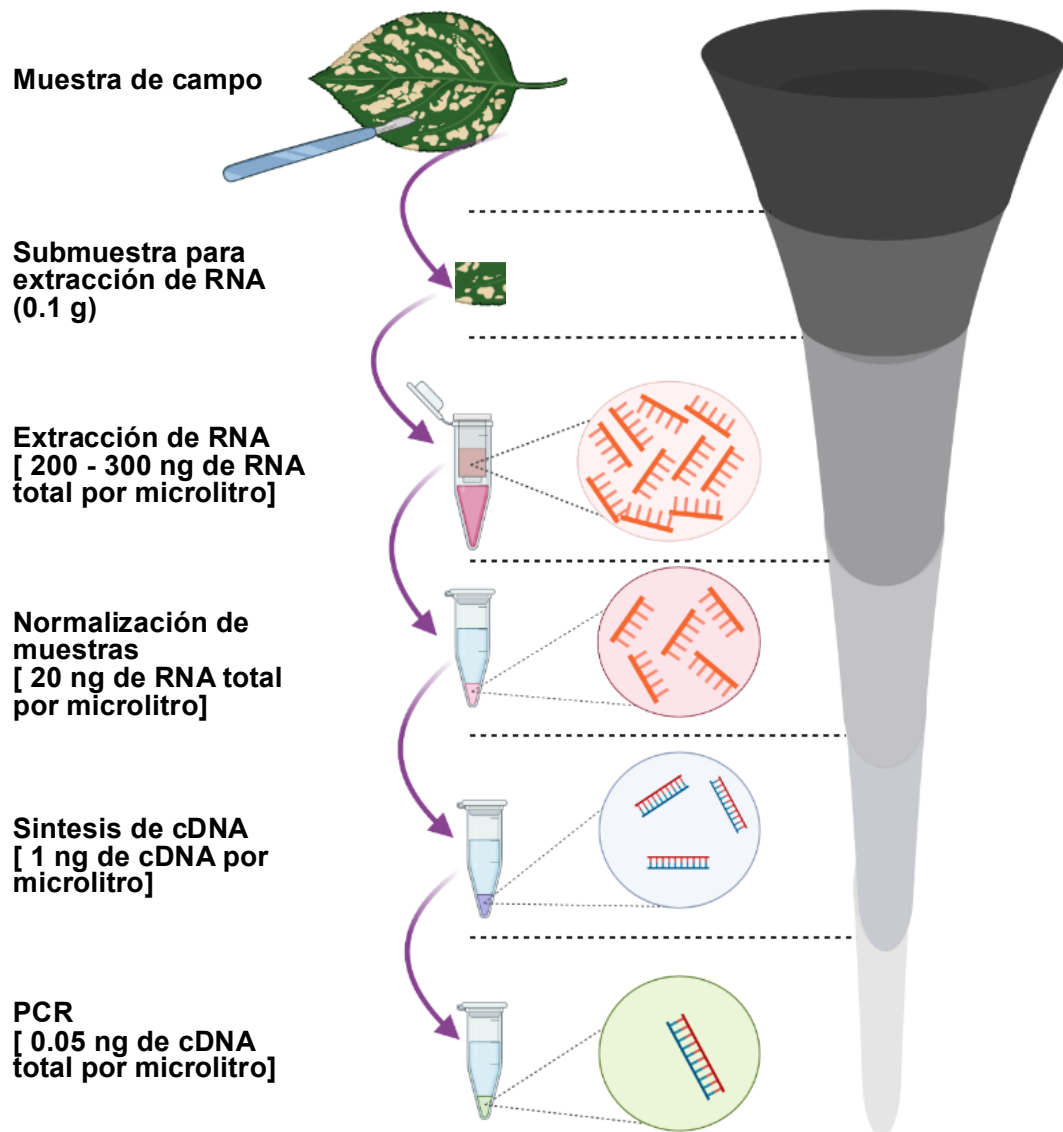


Ilustración: Ruvalcaba-Ramírez, R.

Figura 73. Representación esquemática de la dilución progresiva de ácidos nucleicos virales durante el proceso de extracción de RNA, normalización de la concentración, síntesis de cDNA y PCR, que puede conducir a niveles subdetectables de material genético objetivo.

PORQUE ALGUNOS SUEÑOS NACEN EN LUGARES
PEQUEÑOS, PERO NO ESTÁN HECHOS PARA QUEDARSE
AHÍ.