

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

Evaluation of the pathogenicity of three isolates of Tomato brown rugose fruit virus in tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) from Coahuila, Mexico

Vásquez-Gutiérrez, U.¹ , Frías-Treviño, G.A.^{1*}, López-López, H.¹ , Delgado-Ortiz, J.C.² , Aguirre-Urbe, L.A.¹ , Flores-Olivas, A.¹

RESUMEN

¹ Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, CP. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

² Conahcyt-UAAAN, Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, CP. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.



Please cite this article as/Como citar este artículo: Vásquez-Gutiérrez, U., Frías-Treviño, G.A., López-López, H., Delgado-Ortiz, J.C., Aguirre-Urbe, L.A., Flores-Olivas, A. (2024). Evaluation of the Pathogenicity of Three Isolates of Tomato brown rugose fruit virus in tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) from Coahuila, Mexico.

Revista Bio Ciencias, 11, e1576. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1576>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: October 05th 2023.

Accepted/Aceptado: May 14th 2024.

Available on line/Publicado: June 03th 2024.

El virus de la fruta rugosa marrón del tomate (ToBRFV) es una amenaza emergente ya que representa un riesgo económico en la producción de tomate. El objetivo fue evaluar tres aislados del ToBRFV provenientes de invernaderos de Coahuila, México, para evaluar su patogenicidad en plantas de tomate variedad 172-300, y establecer una escala diagramática que permita una visualización precisa de la severidad de los síntomas en folíolos y frutos. Se obtuvieron tres aislados del ToBRFV (TB1, TQ2 y FQ3) procedentes de invernaderos de tomate, y se han empleado para realizar pruebas de patogenicidad en el híbrido 172-300 en el invernadero. El aislado denominado FQ3 tuvo un impacto mayor en las variables agronómicas de las plantas de tomate en comparación con los demás aislados, se obtuvo una disminución del 53.9 % en la altura de la planta y del 38.9 % en el peso seco de la parte aérea de la planta. En las variables de calidad del fruto, se observó una reducción del 43.1 % en el diámetro ecuatorial y del 43.2 % en el rendimiento, debido a la presencia de FQ3. Además, FQ3 generó una incidencia que osciló entre el 33.9 al 50 % y una severidad entre el 41 al 87.5 % en comparación con los otros aislados. Estos descubrimientos demuestran la importancia de comprender y gestionar la variabilidad en la respuesta de las plantas de tomate a diversos aislados de ToBRFV. En este contexto, el uso de híbridos se presenta como una opción eficaz para preservar niveles de severidad reducidos del virus.

PALABRAS CLAVE: Incidencia, México, parámetros agronómicos, severidad, ToBRFV.

*Corresponding Author:

Gustavo Alberto Frías-Treviño. Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, CP. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Teléfono: (844) 254 4507. E-mail: serveva_gfriast@hotmail.com

ABSTRACT

Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) poses an emerging threat and represents a significant economic risk in tomato production. This study aimed to evaluate three ToBRFV isolates obtained from greenhouses in Coahuila, Mexico, to assess their pathogenicity in tomato plants of the variety 172-300 and establish a diagrammatic scale for accurately visualizing the severity of the symptoms in leaflets and fruits. Three ToBRFV isolates (TB1, TQ2, and FQ3) were obtained from greenhouse tomatoes and used for pathogenicity tests on the hybrid 172-300 under greenhouse conditions. The FQ3 isolate exhibited a greater impact on the agronomic variables of tomato plants compared to the other isolates, resulting in a 53.9% decrease in plant height and a 38.9% reduction in the dry weight of the aerial plant part. Regarding fruit quality variables, the presence of FQ3 led to a reduction of 43.1% in equatorial diameter and a 43.2% decrease in yield. Furthermore, FQ3 caused an incidence ranging from 33.9% to 50% and a severity ranging from 41% to 87.5% compared to the other isolates. These findings underscore the importance of understanding and managing the variability in the response of tomato plants to different ToBRFV isolates. In this context, the use of hybrids emerges as an effective option for mitigating the severity levels of the virus.

KEY WORDS : Incidence, Mexico, Agronomic parameters, Severity, ToBRFV.

Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.), desempeña un papel esencial en la dieta humana debido a su aporte nutricional, esto la posiciona como una hortaliza de importancia tanto a nivel nacional como internacional (Ruíz-Aguilar *et al.*, 2023). En México, las zonas de mayor producción están ubicadas en las regiones del Bajío y el noroeste del país; en 2019, alrededor del 90 % de las exportaciones se dirigieron a los Estados Unidos (Sandoval-Cabrera & Borja-Rodríguez, 2023).

La región Norte del estado de Coahuila se ha caracterizado por mucho tiempo como principal productor de melón (Espinoza-Arellano *et al.*, 2023). Sin embargo, el aumento de costos y la ausencia de financiamiento por parte del gobierno Estatal, ocasionó una reducción en los créditos a los productores y, consecuentemente, una disminución en las hectáreas cultivadas (Espinoza-Arellano *et al.*, 2019). Esta situación condujo a la transición hacia un sistema de

producción de tomate en agricultura protegida (Orona-Castillo *et al.*, 2022). Solo en 2020, en la región norte de Coahuila, se cultivaron 718 hectáreas (Ha) con una producción de 112,180.25 toneladas y un rendimiento promedio de 156.24 kg ha⁻¹, destacando la producción en el sistema de agricultura protegida (SIAP, 2020). El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera reporta que durante el año 2022 se ha registrado un incremento del 15.7 % en el rendimiento de la producción de tomate en el territorio de Coahuila (SIAP, 2023).

De acuerdo con un análisis económico realizado por Orona-Castillo *et al.* (2022), se observa que tres de cada cinco unidades agrícolas exportan entre el 74 y el 85 % de su producción a los Estados Unidos. Asimismo, se estima que el costo promedio de producción por kilogramo de tomate es de 4.02 pesos, y se sugiere que, a medida que aumenta la superficie cultivada, los costos disminuyen. Estos factores resaltan la importancia del cultivo de tomate en agricultura protegida en las regiones productoras de Coahuila.

Una de las restricciones que afectan la producción de este cultivo son los patógenos sistémicos, especialmente los virus que se transmiten a través de la semilla y de manera mecánica (González-Concha *et al.*, 2023; Salem *et al.*, 2022). Los tobamovirus son, en su mayoría, los más importantes para la agricultura, debido a su diversidad genética, mecanismos de transmisión, adaptación, interacción y rango de hospederos (Aiewsakun & Katzourakis, 2016). La mayoría de los virus del género *Tobamovirus* afectan a la familia Solanácea, lo cual genera pérdidas significativas en los cultivos (Caruso *et al.*, 2022). El *virus de la fruta rugosa marrón del tomate* (ToBRFV) fue detectado por primera vez en Jordania en 2015, y actualmente se considera una amenaza para la producción mundial de tomate (Zhang *et al.*, 2022). Debido a su epidemiología se dispersó velozmente en diferentes áreas del mundo (Van de Vossenbergh *et al.*, 2020). En México, se identificó por primera vez en plantas de tomate ubicadas en Ensenada, Baja California, posteriormente en Yurécuaro, Michoacán (Camacho-Beltrán *et al.*, 2019; Cambrón-Crisantos *et al.*, 2019). El ToBRFV se ha dispersado en diversas regiones de México desde su detección hasta la actualidad, lo que ha mostrado variaciones en la incidencia y severidad según los aislados recolectados tanto en invernaderos como en campo (Cambrón-Crisantos *et al.*, 2019; Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2023^a).

El esfuerzo por desarrollar materiales con atributos fenotípicos superiores, tales como el rendimiento y la calidad del fruto, puede generar una mayor vulnerabilidad a enfermedades virales emergentes, como el ToBRFV (Ashkenazi *et al.*, 2018). El estudio de genotipos con tolerancia y resistencia se presenta como una opción para el control genético para el ToBRFV. Las investigaciones recientes sugieren que los genes de resistencia natural en variedades de tomate son alternativas más eficaces para prevenir enfermedades virales (Shi *et al.*, 2011). Kabas *et al.* (2022) evaluaron la resistencia al ToBRFV en 11 híbridos interespecíficos, encontrando que todos demostraron una alta susceptibilidad, con una severidad que varío entre el 54.2 % y el 100 %. Este fenómeno posiblemente se deba a la pérdida de genes resistentes al ToBRFV durante el intercambio genético, lo que resulta en una mayor vulnerabilidad al virus (Jewehan *et al.*, 2022^a).

La patogenicidad de los aislados de ToBRFV varía en función de las condiciones ambientales del cultivo (Davino *et al.*, 2020). En condiciones apropiadas, se producen síntomas notables de amarillamiento intervenal severos, deformaciones, mosaicos y necrosis; en los frutos, causa manchas moteadas, maduración incompleta y, en etapas avanzadas, una rugosidad de color café (Zhang *et al.*, 2022). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue el aislamiento del ToBRFV de tres variedades de tomate ubicadas en Coahuila, México. Con el fin de evaluar la patogenicidad del virus en plantas de tomate, establecer una escala diagramática que permita una visualización precisa de la severidad de los síntomas en folíolos y frutos. Finalmente, se pretende corroborar que la variedad 172-300 (Yüksel) posee un potencial genético para su cultivo en invernaderos de Coahuila.

Material y Métodos

Muestreo e identificación del *virus de la fruta rugosa marrón del tomate*

Las recolecciones se realizaron en invernaderos comerciales, abarcando tres variedades diferentes de tomate, la muestra TB1 se obtuvo de la variedad Blindon F1 de Nunhems, la muestra TQ2 en la variedad Azores de Enza Zaiden, y la muestra FQ3 en la variedad Quiroga de Enza Zaiden. Las muestras pertenecen al municipio de General Cepeda, ubicado en Coahuila, México (N25°19'04.0" W101°24'10.6"). Dentro de una superficie de cuatro hectáreas, se recolectaron 200 folíolos por Ha (un folíolo por planta). Para identificar los síntomas del ToBRFV, se emplearon las claves pictóricas propuestas por Luria *et al.* (2017) y Cambrón-Crisantos *et al.* (2019).

Detección del *virus de la fruta rugosa marrón del tomate*

Como primer paso para la detección, se realizó un ensayo serológico en los sitios de muestreo mediante la prueba InmunoStrip (Agdia). A continuación, las muestras que presentaron resultados positivos fueron trasladados al Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola, y se conservaron en una nevera a temperatura controlada de 5 °C durante cinco días hasta la evaluación experimental (Chanda *et al.*, 2021).

Para la identificación molecular, se procedió según el protocolo de Ortiz-Martínez *et al.* (2022), empleando 100 mg de tejido infectado para extraer RNA de las muestras TB1, TQ2 y FQ3, junto con un control sano (-). Además, se incluyó un control infectado con ToBRFV (+), otorgado por una unidad de inspección fitosanitaria certificada por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) de Coahuila. Se utilizó el kit RNA Isolation System (Promega) para la extracción de RNA y la cuantificación de la calidad por espectrofotometría mediante un NanoDrop 2000 (Thermo Scientific). Para verificar la integridad de las muestras de RNA, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1 % (Invitrogen).

Se utilizó el cDNA del gen endógeno en el proceso de la Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcripción Reversa (RT-PCR), los oligonucleótidos fueron ToBRFV-F (5'-AACCAGAGTCTTCCCTATACTCGGAA-3') y ToBRFV-R (5'-

CTCACCATCTCTTAATAATCTCCT-3'), diseñados para amplificar un fragmento de 475 pb (Rodríguez-Mendoza *et al.*, 2019). Las condiciones de la reacción consistieron en 12.5 μ L Master mix (Platinum), 1.25 μ L de ambos oligonucleótidos (ToBRFV-F y ToBRFV-R), 5 μ L SuperFi GC (Thermo Fisher), 2 μ L de cDNA y 3 μ L de agua grado molecular (Invitrogen), en un volumen total de 25 μ L. Se aplicó el programa siguiente en el termociclador: un ciclo inicial a 98 °C por 90 s, seguido de 35 ciclos a 98 °C por 10 s, 35 ciclos a 55 °C por 20 s, 35 ciclos a 72 °C por 40 s y finalmente un ciclo a 72 °C por 5 minutos. Los productos de amplificación resultantes se observaron en un gel de agarosa al 2 %.

Adicionalmente, se realizó un análisis en las muestras obtenidas (TB1, TQ2 y FQ3) a través de un laboratorio certificado para descartar la presencia de otros virus y confirmar la infección específica por el ToBRFV, tal como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Evaluación externa de la infección y confirmación del ToBRFV en las muestras.

Virus	Muestras analizadas			Métodos de detección	
	TB1	TQ2	FQ3	ELISA	RT-PCR
<i>Virus de la fruta rugosa marrón del tomate (ToBRFV)</i>	Positivo	Positivo	Positivo	NR	R
<i>Virus del mosaico del pepino dulce (PepMV)</i>	Negativo	Negativo	Negativo	NR	R
<i>Virus del mosaico del tabaco (TMV)</i>	Negativo	Negativo	Negativo	R	NR
<i>Virus del marchitamiento manchado del tomate (TSWV)</i>	Negativo	Negativo	Negativo	R	NR
<i>Virus del mosaico del pepino (CMV)</i>	Negativo	Negativo	Negativo	R	NR

El análisis se efectuó en Labfrusco, S.A. de C.V., un laboratorio certificado conforme al sistema de gestión de calidad acreditado en la normativa NMX-EC-17025-IMNC: 2017 (ISO/IEC 17025:2017). La notación R indica que el análisis se ha llevado a cabo, mientras que NR indica que no se realizó.

Ensayo de patogenicidad del ToBRFV en plantas de tomate

Con el fin de obtener un inóculo a una concentración de 1×10^1 (p/v) y aplicarlo como tratamiento, se procedió siguiendo el método de Vásquez-Gutiérrez *et al.* (2024) con algunas modificaciones. El tejido sintomático de las muestras TB1, TQ2, FQ3 y el control positivo se maceraron en un mortero esterilizado y frío. Se usó una solución tampón de fosfatos (STW) con un pH 8 (0.01 M) y se añadió celite (Sigma Aldrich) como abrasivo.

En el invernadero de Parasitología Agrícola, se cultivaron plantas de tomate variedad 172-300 (Yüksel), que tenían 30 días posteriores a la emergencia (dpe), las cuales se trasplantaron a bolsas de polietileno (25x25 cm) con Peat moss como sustrato. Los tratamientos empleados consistieron en un testigo absoluto (AC), un Testigo Positivo (PC) infectado con ToBRFV y los

aislados (TB1, TQ2 y FQ3) con una concentración de 1×10^1 (p/v). La inoculación se realizó a los 10 días posteriores al trasplante (dpt), en las tres primeras hojas verdaderas, utilizando un hisopo impregnado con el inóculo de TB1, TQ2, FQ3 y TP, mientras que AC solo fue tratado con STW. Para el suministro de nutrientes, se empleó la solución nutritiva de Steiner al 50 % (Steiner, 1961). La observación de síntomas se efectuó nueve días posteriores a la inoculación (dpi), para determinar el periodo de incubación, así como para evaluar la incidencia y severidad de las plantas infectadas. Para las variables agronómicas se tomaron 5 plantas, se registraron a los 30 dpi y fueron: altura de planta (PH) en cm con un flexómetro, el diámetro del tallo (SD) en mm con un calibrador vernier, el peso seco de la raíz (DRW) y la parte aérea (PDW) en gramos con una balanza analítica (Ohaus). Se obtuvieron las variables de calidad de frutos 40 dpi, lo que permitió obtener el diámetro polar (FPD) y ecuatorial del fruto (FED) en mm con un calibrador vernier, así como el rendimiento de cada tratamiento (Y) en g con una balanza analítica (Ohaus). Las plantas infectadas con el ToBRFV (PC) presentaron una tasa de mortalidad del 100 %, lo que resultó en la ausencia de producción. Para la uniformidad del fruto se calculó el índice del fruto (FI) con la fórmula propuesta por Sánchez (2019):

$$FI = \left(\frac{\text{Diámetro ecuatorial}}{\text{Diámetro polar}} \right)$$

Diseño de la escala de Severidad

Se desarrolló una escala diagramática de severidad (Tabla 3) con el fin de evaluar el porcentaje de daños en el área foliar, siguiendo la metodología de Ortiz-Martínez *et al.* (2022), con modificaciones. Las observaciones comenzaron a los nueve dpi, y los muestreos cada 15 días a partir de la detección de los primeros síntomas hasta la muerte de las plantas. En cada muestreo y tratamiento, se seleccionaron cinco folíolos con diferentes grados de severidad. Los folíolos se digitalizaron con una impresora MP C2003 PCL6 (RICOH). A continuación, se usó el software ImageJ 1.53t (NIH, USA) para calcular el área total de cada folíolo, así como el área afectada.

En cuanto al porcentaje de severidad en los frutos, se procedió a la transformación de los datos en arcoseno para su normalización, y se diseñaron ocho clases con el programa estadístico InfoStat en su versión 9.0. La evaluación de la escala de daño en frutos abarcó desde el inicio de la cosecha hasta la conclusión del ensayo. La recolección de frutos se llevó a cabo a los 40 dpi, realizando tres colectas semanales durante 30 días. En cada muestreo, se seleccionaron 10 frutos por tratamiento (cada muestreo con diferentes niveles de daños causados por el virus). Estos niveles se clasificaron en función de la severidad, expuesta en la escala diagramática previamente empleada para los folíolos, y se calcularon con la fórmula (Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2023^b).

$$\text{Severidad} = \left(\frac{\text{área afectada}}{\text{área total}} \right) \times 100$$

Análisis de datos

El experimento se estableció mediante un diseño completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento, y cada unidad experimental consistió en una planta por bolsa. Todas las variables evaluadas se sometieron a un análisis de varianza. Para la comparación de medias, se empleó la prueba Tukey ($p \leq 0.05$) mediante el uso del software InfoStat 9.0.

Resultados y Discusión

Se sospecha que las semillas de tomate y pimiento son los principales responsables de la propagación a nivel mundial de la enfermedad causada por ToBRFV (Salem *et al.*, 2022). Es posible que esto se deba a que semillas provenientes de casas comerciales extranjeras no solo son susceptibles al patógeno (Jewehan *et al.*, 2022^b), sino que también sirven como reservorio de partículas virales y actúan como una fuente de inóculo para la propagación del virus en zonas productoras de México (González-Concha *et al.*, 2021). Actualmente se han identificado genotipos resistentes, pero aún no se encuentran de manera comercial en nuestro país, tal es el caso del genotipo Tolerante VC532 y Resistente VC554 (Zinger *et al.*, 2021). La relevancia de ToBRFV radica en su habilidad de eliminar la resistencia genética que han adquirido las plantas de tomate al ataque de los tobamovirus, mediante la supresión de genes del tipo R *Tm-1*, *Tm-2* y *Tm-2*² (Zhang *et al.*, 2022). Por lo tanto, la elección de una variedad de tomate que tolere la infección al ToBRFV, podría ser empleada para la producción de tomate en las regiones de Coahuila.

A continuación, en la Figura 1, se muestran los resultados de la prueba por InmunoStrip y los productos de RT-PCR obtenidos de los ensayos realizados, comparados con el marcador de peso molecular (de 1 kb, Plus Invitrogen™) lo cual nos confirma la presencia de ToBRFV.

Las estrategias para la identificación de ToBRFV que requieran un tiempo reducido y de mayor especificidad, contribuyen a prevenir los niveles elevados de infección en los cultivos de tomate (Rodríguez-Mendoza *et al.*, 2019). Asimismo, la sensibilidad analítica de las pruebas serológicas como InmunoStrip (con un rango de 64 a 320 pg/mL) proporciona una alta especificidad en el diagnóstico de diversos aislados de ToBRFV de hasta el 100 % (Eads *et al.*, 2023). A partir de esto, se destaca la importancia de la utilización de InmunoStrip tanto para el monitoreo en campo como para un diagnóstico rápido, seguido de su confirmación mediante la técnica RT-PCR, como se detalla en la Figura 1. La utilización de la prueba inmunoStrip no solo previene, sino que también acelera la detección en las fases tempranas del cultivo, lo que ofrece beneficios significativos a los productores. Esta situación se debe a que prefieren afrontar el costo de una prueba rápida para detección del virus, cuyo costo unitario es de \$191, en comparación con el diagnóstico por RT-PCR, que oscila entre \$1000 y \$3000 por muestra. Además, es esencial identificar las partes infectadas con ToBRFV, ya que estas constituyen una fuente de inóculo que puede propagar la enfermedad en toda la zona de producción. La implementación de esta medida contribuirá a fortalecer las prácticas de higiene en las áreas de cultivo, reduciendo de esta manera los riegos de diseminación a otras regiones productoras de tomate (Klap *et al.*, 2020).

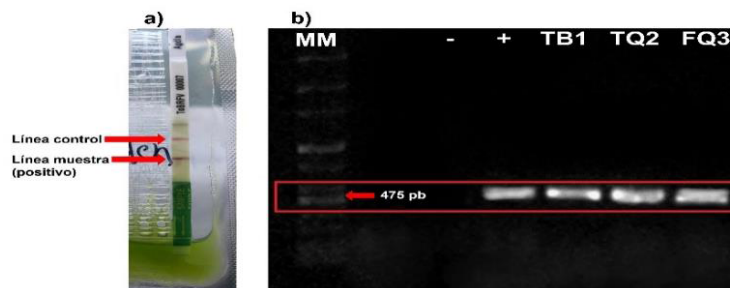


Figura 1. Métodos de diagnóstico de la infección por ToBRFV en plantas de tomate.

a) prueba por InmunoStrip (Agdia) y b) RT-PCR, donde MM=Marcador Molecular 1 kb (Plus Invitrogen), (-) = control negativo sano, (+) = control positivo a ToBRFV, además, TB1, TQ2 y FQ3 representan los resultados de los aislados.

Ensayo de patogenicidad del ToBRFV en plantas de tomate

En la evaluación de los parámetros agronómicos (Tabla 2), se evidencia que el FQ3 expresó la mayor reducción significativa en la PH (49.48 cm), el SD (14.08 mm), el DRW (59 g) y el PDW (280 g). Mientras tanto, TB1 disminuyó hasta 57.87 cm en PH, 15.53 mm en SD y 71 g en DRW. Esta situación puede ser atribuida a la presencia de genes de avirulencia en los aislados FQ3 y TB1, ya que las semillas procedían de diferentes empresas comerciales (Avni *et al.*, 2019). Además, se observó en los invernaderos previamente al estudio que FQ3 mostraba una incidencia y severidad superior en comparación con TB1 y TQ2.

Tabla 2. Parámetros fisiológicos de plantas de tomate variedad 172-300 infectadas con diferentes muestras de ToBRFV a los 30 días posteriores a la inoculación.

Tratamientos	Variables evaluadas			
	PH (cm)	SD (mm)	DRW (g)	PDW (g)
TB1	57.87±1.36 ^b	15.53±2.14 ^{abc}	71±3.89 ^{bc}	310±3.53 ^b
TQ2	51.28±3.18 ^c	14.98±1.98 ^{cd}	70±3.45 ^{bc}	311±3.65 ^b
FQ3	49.48±1.23 ^{cd}	14.08±1.36 ^{cd}	59±3.37 ^d	280±3.19 ^{bc}
TA	107.38±1.39 ^a	17.47±2.95 ^a	88±4.18 ^a	457±4.38 ^a
P valor	0.0001			

Medias con la misma letra en cada columna no muestran diferencia significativa según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). PH: altura de planta; SD: diámetro del tallo; DRW: peso seco de la raíz; PDW: peso seco de la planta.

Un desafío inherente a los tobamovirus radica en su capacidad para persistir en el suelo o en el agua de riego, lo que facilita su rápida propagación y prolongados períodos de infección

(Ortiz-Martínez *et al.*, 2022). Estos virus pueden diseminarse a través de heridas en las hojas, contacto entre raíces, semillas contaminadas y mediante la solución nutritiva. Actualmente, estos factores representan puntos críticos que contribuyen a la rápida infección por ToBRFV (Panno *et al.*, 2020), generando consecuentemente una disminución en las variables agronómicas y en la calidad de los frutos, tal como se evidencia en la Tabla 2 y 3.

La PH experimentó cambios notables en los tres tratamientos, especialmente con FQ3, que disminuyó un 53.9 % en comparación con el TA. Este hecho coincide con la investigación de Takács *et al.* (2001), en la que la infección del TMV redujo el crecimiento de las plantas de tomate. En cuanto al SD, se observó que el aislado FQ3 mostró mayor afectación, seguido de TQ2, debido a la severidad ocasionada en plantas de tomate. Este fenómeno se relaciona con la afirmación de Bhat y Rao (2020) de que las plantas infectadas por virus reducen las variables fisiológicas de la planta. En cuanto al DRW y PDW, aunque no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los aislados, se ha comprobado que el FQ3 tuvo un efecto más significativo en estas variables. Esto concuerda con lo descubierto por Rys *et al.* (2014), quienes señalan que *virus del pimiento Obuda* (OPV) afecta los aparatos fotosintéticos de las plantas, reduciendo la captación de luz a través de las hojas y ocasionando una reducción en la proliferación de brotes foliares en las plantas. La aplicación de un análisis detallado de las variables agronómicas resulta fundamental para la gestión efectiva de la enfermedad, la implementación de medidas preventivas, la cuantificación de las pérdidas y el desarrollo de variedades de tomate resistentes al ToBRFV (Eads *et al.*, 2023; Caruso *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Además, la reducción en la biomasa de las plantas debido al ataque viral es un indicador de la infección y el daño que las plantas experimentan (Pagán *et al.*, 2007).

En lo que respecta a las variables de calidad en el fruto (Tabla 3), se observa que el tratamiento FQ3 se asocia con una diferencia estadísticamente significativa con los valores más bajos en FED y Y, registrando 3.31 mm y 85.6 g, respectivamente. Además, este tratamiento también afecta al FPD (3.22 mm) y el FI (1.03 mm), en comparación con los otros tratamientos.

Tabla 3. Parámetros de calidad de frutos de tomate variedad 172-300 infectadas con diferentes muestras de ToBRFV a los 40 días posteriores a la inoculación.

Tratamientos	Variables evaluadas			
	FPD (mm)	FED (mm)	FI (mm)	Y (g)
TB1	4.17±0.94 ^b	5.12±1.41 ^{bc}	1.23±0.89 ^b	131.2±4.39 ^{bc}
TQ2	3.52±0.86 ^{bc}	4.12±0.98 ^{cd}	1.17±0.83 ^{bc}	125.4±4.17 ^{cd}
FQ3	3.22±0.85 ^{cd}	3.31±0.87 ^{de}	1.03±0.81 ^c	85.6±3.43 ^{de}
TA	4.36±0.98 ^a	5.82±1.67 ^a	1.33±0.96 ^a	150.8±5.13 ^a
P valor	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001

Medias con la misma letra en cada columna no muestran diferencia significativa según la prueba de Tukey ($p < 0.05$). FPD: diámetro polar del fruto; FED: diámetro ecuatorial del fruto; FI: índice del fruto; Y: rendimiento de cada tratamiento.





Los efectos adversos del ToBRFV en diversos órganos de la planta de tomate, incluyendo los órganos reproductores masculinos, facilitan la infección y la disminución de la calidad de los frutos (Avni *et al.*, 2022). Asimismo, ToBRFV ocasiona un efecto negativo en la uniformidad del tamaño y el color del fruto (Menzel *et al.*, 2019). Esto explica porque FQ3, seguido de TQ2 y TB1 redujo significativamente el diámetro polar y ecuatorial de los frutos afectando notablemente la calidad y tamaño (FI). Además, se ha documentado que las pérdidas de rendimiento en tomate debido al ToBRFV pueden alcanzar el 40 % (González-Concha *et al.*, 2021), mientras que Ortiz-Martínez *et al.* (2022) sugieren que estas pérdidas alcanzan hasta el 70 %. Por otro lado, Avni *et al.* (2019) revelaron, a través de la hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés), que los genotipos de tomate evaluados y portadores del gen de resistencia *Tm-2²*, experimentaron una disminución del rendimiento del 55 %. En cambio, en los tomates del cultivar TOP-2299 (genes no conocidos), se obtuvo una disminución del 40 % (González-Concha *et al.*, 2023). De acuerdo con los resultados presentados en la Tabla 3, nuestros resultados indican que la disminución del rendimiento varió desde el 12.9 % (TB1) hasta el 43.1 % (FQ3) según el aislamiento inoculado. Estos hallazgos son consistentes con los informes mencionados anteriormente.

Escala de Severidad

A partir de los diversos aislados de ToBRFV, se elaboró una escala diagramática de severidad EDS-ToBRFV (Tabla 4), que abarcó un rango de severidad de 0 a 80.54. Los aislados demostraron diferentes patogenicidades, creando ocho clases para cuantificar el grado de daño, donde: las clases 1 a 3 pertenecen al aislado TB1 (que presentó la menor severidad en folíolos y frutos), las clases 3 a 5 se relacionan con TQ2, mientras que las clases 4 a 8 pertenecen al aislado FQ3 (ocasionó una mayor severidad).















La elaboración de una escala diagramática de severidad proporciona una herramienta estandarizada de importancia para evaluar y diagnosticar de manera precisa la infección por ToBRFV en cultivares de tomate (González-Concha *et al.*, 2023). Además, esta escala permite la observación continua de la evolución de la infección con el propósito de implementar medidas de control, tales como la selección de genotipos resistentes y la aplicación de una estrategia de manejo efectiva (Luria *et al.*, 2017).

Tabla 4. Escala de severidad para folíolos y frutos de tomate variedad 172-300 infectados con ToBRFV.

Clases	Severidad ^a	Reacción de ToBRFV		
0	0			Sano
1	1.81 – 10.47			Muy leve

Continuación

Tabla 4. Escala de severidad para folíolos y frutos de tomate variedad 172-300 infectados con ToBRFV.

Clases	Severidad ^a			Reacción de ToBRFV
2	10.47 – 28.86			Severidad mínima
3	28.86 – 34.57			Medianamente severo
4	34.57 – 43.33			Severo
5	43.33 – 51.30			Muy severo
6	51.30 – 64.23			Medianamente agresivo
7	64.23 – 72.05			Agresivo
8	72.05 – 80.54			Muy agresivo

^aarcoseno

En el estudio realizado por Kabas *et al.* (2022), se utilizaron 44 accesiones de especies silvestres y comerciales de tomate para establecer una escala de severidad de los síntomas y la reacción de la enfermedad ante la infección por ToBRFV a los 30 dpi, lo que resultó en la clasificación de los síntomas en tres categorías de severidad. De manera similar, Jewehan *et al.* (2022^a) diseñaron una escala con cinco categorías de severidad a partir de los 15 dpi con 173 accesiones silvestres de tomate, sin embargo, su escala no incluye rangos específicos para la severidad de los síntomas causados por ToBRFV. González-Concha *et al.* (2023) elaboraron una escala empleando folíolos de los cultivares TOP-2299 y MACIZO, donde establecieron cinco categorías que se basan exclusivamente en características cualitativas. La escala diseñada en este estudio con el propósito de evaluar la severidad causada por ToBRFV es fundamental en la investigación fitopatológica, ya que proporciona un diagnóstico más preciso de la enfermedad, permite un monitoreo cuantitativo, lo que facilita la toma de decisiones efectivas.

Los diferentes aislados de ToBRFV al ser inoculados en plantas de tomate (Tabla 5) demostraron que FQ3 presenta una incidencia mayor (90 %) y severidad (63.43 %) que los otros aislados. Asimismo, el periodo de incubación (IP) es más corto, con nueve dpi en FQ3.

Tabla 5. Incidencia y severidad de los diferentes aislados de ToBRFV en plantas de tomate variedad 172-300.

Aislados	Incidencia ^a	Clases	IP (dpi)	Severidad ^a
PC	90	4-8	9	90
TB1	60	1-3	12	33.83
TQ2	67.21	3-5	11	45
FQ3	90	4-8	9	63.43
TA	0	0	0	0
<i>P</i> valor	0.0003			0.0001

IP: periodo de incubación; dpi: días posteriores a la inoculación. ^aarcoseno.

Ortiz-Martínez *et al.* (2022) han demostrado que la inoculación de ToBRFV en ocho variedades distintas de Chile produjo un IP entre 6 y 11 dpi, así como una severidad entre 20 y 57 %. Sus resultados evidencian la conexión entre la variedad de Chile y la severidad de la infección, así como su influencia en el área foliar afectada. Nuestros resultados revelaron similitudes notables con el IP, mientras que en la severidad se observaron niveles superiores. Gaafar y Ziebell (2020) señalan que las plantas, como respuesta al estrés biótico, producen un mecanismo de silenciamiento de RNA en el citoplasma, mediante microRNA de 21 a 24 nucleótidos de longitud, los cuales suprimen la transcripción de RNA de tobamovirus. La inoculación del ToBRFV en plantas de tomate ha demostrado activar una respuesta hipersensible (HR), una característica compartida con otros tobamovirus (Luria *et al.*, 2017). Como se puede apreciar

en la Tabla 4 y 5, los tres aislados mostraron comportamientos muy diferentes, a pesar de que TQ2 y FQ3 provenían de plantas cultivadas de la misma zona y de semillas suministradas por la misma empresa. Este proceso probablemente se debe a que los genes de avirulencia (Avr) del dominio de helicasa de 50 kDa (TMV P50) están involucrados en la interacción de los dominios P50, receptores N y la proteína NRIP1 (Avni *et al.*, 2019).

Sin embargo, se ha comprobado que ToBRFV es capaz de evadir la resistencia otorgada por los genes del tipo R *Tm-1*, *Tm-2* y *Tm2²*, los cuales son genes dominantes en plantas de tomate (Zhang *et al.*, 2022). Esto podría explicar por qué la incidencia y la severidad de la infección variaron significativamente entre los diferentes aislados evaluados en este experimento. Además, los factores climáticos también se encuentran vinculados como una variable dependiente en la patogenicidad del ToBRFV. El estudio de Klap *et al.* (2020) demostró como la temperatura afecta a la infección por ToBRFV, sus hallazgos indican que la temperatura actúa como un factor limitante, ya que se presentó una baja incidencia de infección en condiciones diurnas de 16 a 20 °C, y los síntomas se manifestaron en 35 dpi. Recientemente, Nolasco-García *et al.* (2023) emplearon la amplificación del segmento OFR2 del genoma del ToBRFV y aplicaron un algoritmo de máxima entropía, analizando 22 variables bioclimáticas como predictores. Según sus resultados, los cambios climáticos que favorecen la incidencia y severidad del virus son la precipitación pluvial (27.7 %) y la humedad relativa del ambiente (26.4 %). Esto coincide con nuestros hallazgos, ya que los aislados estudiados estuvieron expuestos a una temperatura que varió entre 26 °C desde el inicio del cultivo hasta 38 °C durante la etapa de fructificación. Se constató que, conforme se incrementó la temperatura, la severidad del virus aumentó significativamente.

En hojas de *Nicotiana tabacum*, se pudo observar que la diseminación de ToBRFV se atribuye a las proteínas de movimiento (MP), que trabajan en los plasmodesmos foliares; estas proteínas, pertenecientes a las proteínas localizadas en los plasmodesmos número 5 (PDL5), están estrechamente asociadas con la pared celular (Kutsher *et al.*, 2021). Debido a este mecanismo de infección por parte de ToBRFV, se produce un incremento en la severidad de la infección (Tabla 5) y una acumulación de la carga viral que afecta a los folíolos de la planta (Tabla 4).

En el estudio realizado por Jewehan *et al.* (2022^a), se observó que los diversos aislados de ToBRFV provenientes de Jordania tienen un impacto variable en la expresión de la enfermedad en las plantas de tomate. Algunos de estos aislados resultaron en síntomas leves, como la obstrucción en el desarrollo de las raíces, necrosis y deformaciones en el tallo, como se muestra en la Figura 2a.

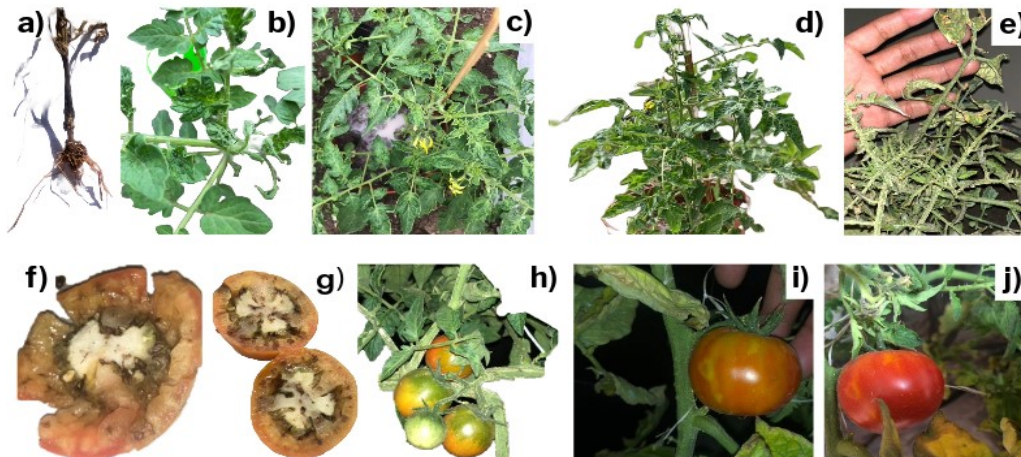


Figura 2. Síntomas producidos por los diferentes aislamientos de ToBRFV en plantas de tomate variedad 172-300.

a) daño en raíz, b-e) daño en folíolos, f-g) necrosis en los lóculos de frutos y h-j) maduración irregular y leves manchas marrones en frutos.

Fuente: propia, tomadas por Ubilfrido Vásquez-Gutiérrez

En plantas de *N. benthamiana* y tomate infectadas con el ToBRFV, se ha comprobado que ciertos aminoácidos clave (A¹³⁴, I¹⁴⁷, H⁶⁷, N¹²⁵ y K¹²⁹) presentes en ToBRFV, desempeñan un papel crucial en la superación de la resistencia del gen *Tm2²* (Yan *et al.*, 2021). Jewehan *et al.* (2022^a) observaron que en plantas de tomate y de *N. glutinosa* inoculadas con el ToBRFV, las hojas sintomáticas presentaban niveles superiores de ácido nucleico viral en comparación con las plantas infectadas que no presentaron síntomas visibles. Esto genera síntomas visuales tales como enrollamientos, ligeros amarillamientos, mosaicos y ampollas en las hojas (véase Figura 2 b, c y d). A medida que se intensifica la infección, se pueden apreciar moteados y daños más agresivos en las hojas como malformación en forma de cordón (ver Tabla 4 y Figura 2 e).

La infección de ToBRFV en los frutos provoca manchas marrones necróticas en el epicarpio, el mesocarpio y los lóculos del fruto (Figura 2 f-g), manchas irregulares en la superficie externa del fruto, junto con manchas marrones y una maduración irregular (Figura 2 h-j). Se ha propuesto que ToBRFV pudiese utilizar los lisosomas para facilitar su infección viral, y también manipular las proteínas del huésped, mediante sus proteínas modificadas postraduccionales (como TOM1-TOM2) para aumentar su contenido de RNA viral (Van Damme *et al.*, 2023). El silenciamiento de los genes SITOM1a y SITOM3 en las plantas de tomate conduce a una mayor acumulación de ToBRFV en el exocarpio (Kravchik *et al.*, 2022), lo que lleva a la formación de los daños observados en la Figura 2 y una reducción en la calidad de los frutos, tal como se puede observar en la Tabla 3.

La administración de la infección viral en el cultivo de tomate requiere una atención específica tanto a su herencia genética como a las circunstancias climáticas. A pesar de ello, es importante señalar que el tomate presenta una heterogeneidad genética limitada debido a su proceso de domesticación y a su intensa selección a la que ha sido sometido (Panno *et al.*, 2021). Es fundamental tener en cuenta que los virus son los responsables de casi la mitad de las enfermedades emergentes en la producción de tomate. Un ejemplo relevante es el ToBRFV, el cual ha generado infecciones a través de la transmisión por los tegumentos externos y el endospermo de la semilla, como también mediante la transmisión mecánica por micro lesiones inducidas en las plantas durante las prácticas agronómicas (Caruso *et al.*, 2022).

Con el propósito de cultivar tomates libres del ToBRFV y prevenir su propagación en los sistemas de agricultura protegida, resulta imperativo identificar y adoptar una combinación de prácticas fitosanitarias en el proceso de producción de tomate (Panno *et al.*, 2020). Una estrategia innovadora para alcanzar este objetivo es seleccionar un híbrido de tomate F1 que sea tolerante a los tobamovirus, junto con semillas libres del ToBRFV; además, resulta beneficioso que la planta pueda producir niveles elevados de proteínas solubles totales, compuestos fenólicos y una significativa actividad enzimática de catalasas y peróxido dismutasa (Nadeem *et al.*, 2022; Panno *et al.*, 2021). Los resultados obtenidos en nuestro análisis destacan la importancia de la fuente de inóculo del ToBRFV y su papel en el proceso de selección de la variedad de tomate a cultivar, incluso en circunstancias en las que ya se ha detectado el virus en la misma localidad.

Conclusiones

El virus de la fruta rugosa marrón del tomate (ToBRFV) representa una grave amenaza económica para la producción de tomate en Coahuila, México. Los resultados de este estudio indican que el aislado de ToBRFV FQ3 tuvo un impacto significativo en los parámetros agronómicos de las plantas y en la calidad de los frutos de tomate de la variedad 172-300, evaluados en este estudio. Al examinar la infección de diversos aislados de ToBRFV en las plantas de tomate, se observó que FQ3 presentó una incidencia y severidad significativamente superior. Asimismo, se destaca que la variedad 172-300 (Yüksel) se presenta como un material genético prometedor para la producción comercial de tomate bajo invernadero en Coahuila. Estos hallazgos no solo enriquecen la comprensión de la patogénesis de ToBRFV, sino también favorecen al desarrollo de sistemas de manejo integrado de enfermedades emergentes en la producción de tomate.

Contribución de los autores

UVG y GAFT concibieron, diseñaron y realizaron la investigación. JCDO, LAU y HLL, realizaron el análisis e interpretación de los datos. UVG redactó el manuscrito con el apoyo de GAFT, AFO y HLL.

Todos los autores contribuyeron a la discusión, revisión y aceptación del manuscrito final.

Agradecimientos

Agradecemos el financiamiento a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología por la beca de maestría otorgada a Ubilfrido Vásquez Gutiérrez (número de beca 1223150).

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Aiewsakun, P., & Katzourakis, A. (2016). Time-dependent rate phenomenon in viruses. *Journal of virology*, 90(16), 7184-7195. <https://doi.org/10.1128/jvi.00593-16>
- Ashkenazi, V., Rotem, Y., Ecker, R., Nashilevitz, S., & Barom, N. (2018). Tolerance in plants of *Solanum lycopersicum* to the tobamovirus tomato brown rugose fruit virus (TBRFV). *Patentscope*, 38. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2018219941>
- 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), 2864. <https://doi.org/10.3390/cells11182864>
- Avni, B., Gelbart, D., Sufrin-Ringwald, T., Zinger, A., Chen, L., Machbash, Z., & Lapidot, M. (2019). Tomato genetic resistance to tobamoviruses is compromised. In VI International Symposium on Tomato Diseases: Managing Tomato Diseases in the Face of Globalization and Climate Change. *ISHS Acta Horticulturae*, 1316, 89-98. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1316.13>
- Springer Protocols (2020). Characterization of Plant viruses. In Bhat, A.I., & Rao, G.P. *Symptoms of Virus-Infected Plants*. (pp. 185-207). Ed. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0334-5_2
- Camacho-Beltrán, E., Pérez-Villarreal, A., Leyva-López, N. E., Rodríguez-Negrete, E. A., Cenicerós-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>
- Cambrón-Crisantos, J. M., Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, J. B., Alcasio-Rangel, S., García-Ávila, C. 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>
- 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). 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. *Plant Disease*, 105(11), 3643-3652. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1070-RE>
- Davino, S., Caruso, A. G., Bertacca, S., Barone, S., & Panno, S. (2020). Tomato brown rugose fruit virus: Seed transmission rate and efficacy of different seed disinfection treatments. *Plants*, 9 (11), 1615. <https://doi.org/10.3390/plants9111615>
- 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>
- Espinoza-Arellano, J. J., Fabela-Hernández, A. M., Gaytán-Mascorro, A., Reyes-González, A. & Sánchez-Toledano, B. I. (2023). Cuantificación y uso de pérdidas de alimentos: caso del melón cantaloupe en una región del norte-centro de México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 14(2), 159-170. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i2.2962>
- Espinoza-Arellano, J.J., Orona-Castillo, I., Guerrero-Ramos, L. A., Molina-Morejón, V.M., & Ramírez-Quiroga, E.C. (2019). Análisis del financiamiento, comercialización y rentabilidad del cultivo del melón con enfoque de “siembras por etapas” en la Comarca Lagunera de Coahuila, México. *CienciaUAT*, 13(2), 71-82. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i2.1054>
- Gaafar, Y. Z. A., & Ziebell, H. (2020). Novel targets for engineering *Physostegia* chlorotic mottle and tomato brown rugose fruit virus-resistant tomatoes: in silico prediction of tomato microRNA targets. *PeerJ*, 8(1), e10096. <https://doi.org/10.7717/peerj.10096>
- González-Concha, L. F., Ramírez-Gil, J. G., García-Estrada, R. S., Rebollar-Alviter, Á., & Tovar-Pedraza, J. M. (2021). Spatiotemporal analyses of tomato brown rugose fruit virus in commercial tomato greenhouses. *Agronomy*, 11(7), 1268. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071268>
- González-Concha, L. F., Ramírez-Gil, J. G., Mora-Romero, G. A., García-Estrada, R. S., Carrillo-Fasio, J. A., & Tovar-Pedraza, J. M. (2023). Development of a scale for assessment of disease severity and impact of tomato brown rugose fruit virus on tomato yield. *European Journal of Plant Pathology*, 165(3), 579-592. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02629-0>
- Jewehan, A., Salem, N., Tóth, Z., Salamon, P., & Szabó, Z. (2022^a). Evaluation of responses to tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) and selection of resistant lines in *Solanum habrochaites* and *Solanum peruvianum* germplasm. *Journal of General Plant Pathology*, 88(3), 187-196. <https://doi.org/10.1007/s10327-022-01055-8>
- Jewehan, A., Salem, N., Tóth, Z., Salamon, P., & Szabó, Z. (2022^b). Screening of *Solanum* (sections *Lycopersicon* and *Juglandifolia*) germplasm for reactions to the tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129(1), 117–123. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00535-x>
- Kabas, A., Fidan, H., Kucukaydin, H., & Atan, H. N. (2022). Screening of wild tomato species and interspecific hybrids for resistance/tolerance to Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV). *Chilean journal of agricultural research*, 82(1), 189-196. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392022000100189>
- Klap, C., Luria, N., Smith, E., Bakelman, E., Belausov, E., Laskar, O., & Dombrovsky, A. (2020). The Potential Risk of Plant-Virus Disease Initiation by Infected Tomatoes. *Plants*, 9(5), 623. <https://doi.org/10.3390/plants9050623>
- Kravchik, M., Shnaider, Y., Abebie, B., Shtarkman, M., Kumari, R., Kumar, S., Leibman, D., Spiegelman, Z. & Gal-On, A. (2022). Knockout of SITOM1 and SITOM3 results in differential

- resistance to tobamovirus in tomato. *Molecular plant pathology*, 23(9), 1278-1289. <https://doi.org/10.1111/mpp.13227>
- Kutsher, Y., Evenor, D., Belausov, E., Lapidot, M., & Reuveni, M. (2021). Leaf Plasmodesmata Respond Differently to TMV, ToBRFV and TYLCV Infection. *Plants*, 10(7), 1442. <https://doi.org/10.3390/plants10071442>
- 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>
- Menzel, W., & Winter, S. (2019). 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. In VI International Symposium on Tomato Diseases: Managing Tomato Diseases in the Face of Globalization and Climate Change, 1316, 143-148. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1316.20>
- Nadeem, S., Ullah, N., Akhtar, K. P., Hameed, A., & Saleem, M. Y. (2022). Evaluation of Tomato Hybrids for Resistance against Tomato Mosaic Virus (ToMV). *Journal of Botanical Research*, 4(2), 1-11. <https://doi.org/10.30564/jbr.v4i2.4579>
- Nolasco-García, L. I., Marín-León, J. L., Mireles-Arriaga, A. I., Ruiz-Nieto, J. E., & Hernández-Ruiz, J. (2023). Áreas geográficas susceptibles al virus rugoso del tomate (ToBRFV) en Guanajuato, México. *Bioagro*, 35(1), 13-20. <https://doi.org/10.51372/bioagro351.2>
- Orona-Castillo, I., Del-Toro-Sánchez, C.L., Fortis-Hernández, M., Preciado-Rangel, P., Espinoza-Arellano, J. J., Rueda-Puente, E., Flores-Vázquez, M., & Cano-Ríos, P. (2022). Indicadores técnico-económicos de la producción del cultivo de tomate bajo agricultura protegida en la Comarca Lagunera, México. *Biocencia*, 24(3), 70-76. <https://doi.org/10.18633/biocencia.v24i3.1721>
- Ortiz-Martínez, L. E., Ochoa-Martínez, D. L., Rojas-Martínez, R. I., Aranda-Ocampo, S., & Cruz, M. Á. G. (2022). Respuesta de variedades de chile a la infección con Tomato brown rugose fruit virus. *Summa Phytopathologica*, 47(4), 209-215. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/250747>
- Pagán, I., Alonso-Blanco, C., & García-Arenal, F. (2007). The relationship of within-host multiplication and virulence in a plant-virus system. *PLOS ONE*, 2(8), e786. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000786>
- Panno, S., Davino, S., Caruso, A. G., Bertacca, S., Crnogorac, A., Mandić, A., Noris, E., & Matic, S. A. (2021). Review of the Most Common and Economically Important Diseases That Undermine the Cultivation of Tomato Crop in the Mediterranean Basin. *Agronomy*, 11(11), 2188. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112188>
- 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), 834. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060834>
- 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 del virus del fruto rugoso marrón del tomate mediante RT-PCR de una región codificante de replicasa (RdRP). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(2), 345-356. <http://dx.doi.org/10.18781/R>

MEX.FIT.1902-6

- Ruíz-Aguilar, M. Y., Montes-Molina, J. A., Castañón-González, J. H., Gutiérrez-Miceli, F. A., Hernández-Guzmán, M., López-López, H., Ruíz-Valdiviezo, V. M., & Villalobos-Maldonado, J. J. (2023). Uso de la harina del pez diablo (*Pterygoplichthys* spp.) en la fertilización orgánica del tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*, 39(1), 159-169. <https://doi.org/10.20937/RICA.54848>
- Rys, M., Juhász, C., Surówka, E., Janeczko, A., Saja, D., Tóbiás, I., Skoczowski, A., Barna, B., & Gullner, G. (2014). Comparison of a compatible and an incompatible pepper-tobamovirus interaction by biochemical and non-invasive techniques: Chlorophyll a fluorescence, isothermal calorimetry and FT-Raman spectroscopy. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83(1), 267-278. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.08.013>
- 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, O. I. (2019). Evaluación de dos híbridos semicomerciales de tomate saladette producidos en campo abierto en Zamorano, Honduras [Tesis de Licenciatura, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras, Carrera de Ingeniería Agronómica]. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/671>
- Sandoval-Cabrera, S. V., & Borja-Rodríguez, B. A. (2023). La naturaleza de los vínculos y el escalamiento en el subsector hortícola en México. *Economía: teoría y práctica*, 58(1), 145-171. <https://doi.org/10.24275/etypuam/ne/582023/sandoval>
- Shi, A., Vierling, R., Grazzini, R., Chen, P., Caton, H., & Panthee, D. (2011). Molecular markers for Tm-2 alleles of Tomato mosaic virus resistance in tomato. *American Journal of Plant Sciences*, 2(2), 180. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2011.22020>
- SIAP. (2023). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2023, agosto 23). Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- SIAP. (2020). Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Agricultura protegida. (2023, septiembre 25). Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>.
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, 15(2), 134-154. <https://doi.org/10.1007/BF01347224>
- Takács, A., Kazinczi, G., & Pribék, D. (2001). Biological Decline of *Solanum nigrum* L. Due to Tobacco Mosaic Tobamovirus (TMV) Infection I. Growth and Nutrient Uptake. *Acta Phytopathologica Entomologica Hungarica*, 36(1-2), 9-14. <https://doi.org/10.1556/aphyt.36.2001.1-2.2>
- 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 Vossenbergh, B. T., Visser M., Bruinsma, M., Koenraad, H. M. S., & Westenberg, 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-Urbe, L.A., & Flores-Olivas, A. (2023^a). Pathogenicity of three Tomato brown rugose fruit virus isolates and

- response in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Proceedings of the 3rd International Electronic Conference on Agronomy, 15–30 October 2023, MDPI: Basel, Switzerland. <https://sciforum.net/paper/view/14988>
- Vásquez-Gutiérrez, U., Frías-Treviño, G. A., Aguirre-Úrbe, L. A., Flores-Olivas, A., & Delgado-Ortiz, J. C. (2023^b). Severity of Tomato brown rugose fruit virus in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) from a region of Coahuila, México. *International Journal of Horticulture, Agriculture and Food Science*, 7(2), 1-6. <https://dx.doi.org/10.22161/ijhaf.7.2.1>
- Vásquez-Gutiérrez, U., López-López, H., Frías-Treviño, G.A., Delgado-Ortiz, J.C., Flores-Olivas, A., Aguirre-Urbe, L.A., & Hernández-Juarez, 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., Wang, L., Tettey, C., Zhao, M.-S., Geng, C., 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>
- 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>
- Zinger, A., Lapidot, M., Harel, A., Doron-Faigenboim, A., Gelbart, D., & Levin, I. (2021). Identification and mapping of tomato genome loci controlling tolerance and resistance to Tomato brown rugose fruit virus. *Plants*, 10(1), 179. <https://doi.org/10.3390/plants10010179>