

II Jornada sobre el cultivo del tomate
27 de Junio de 2024



Complejo de virosis en el cultivo del tomate

Carmen M^a Lacasa Martínez

Colaborador científico del IMIDA

carmenm.lacasa@carm.es



"Europa se siente"



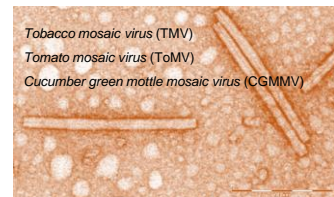
1

Virus del fruto pardo y rugoso del tomate

Género *Tobamovirus*, más de 30 especies



- Transmitidos por contacto mecánico y por la semilla.
- Alta estabilidad en los restos vegetales.
- Muy persistentes en el suelo y en superficies (incluyendo herramientas de cultivo).
- Gama de hospedadores estrecha.
- Niveles de acumulación muy altos en sus hospedadores (1% ptp)
- Hay resistencias monogénicas y dominantes, incluyendo *Tm2²* y *L4*

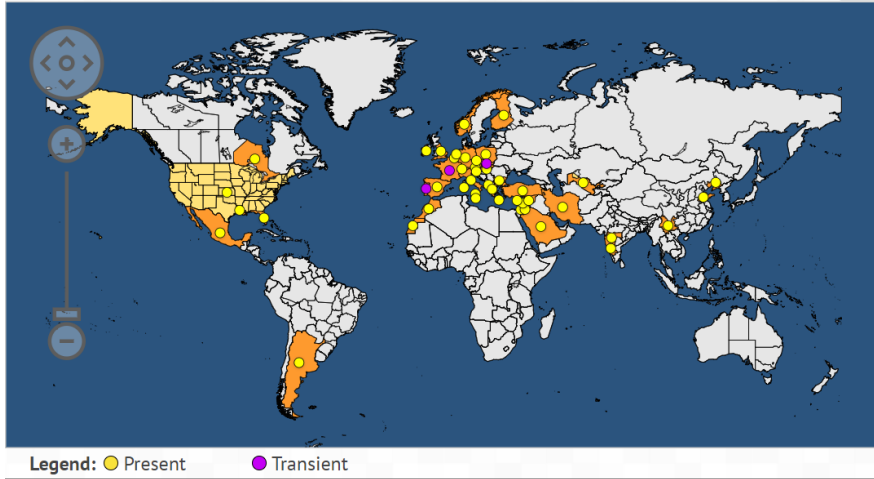


"Europa se siente"



2

Distribución



Jordania, 2015

América: Argentina, México, Chile, Perú, Rep. Dominicana, Canadá, EEUU.

África: Marruecos, Sahara.

Asia: China, India, Irán, Israel, Jordania, A. Saudí, Líbano, etc.

Europa: Alemania, Italia, Holanda, Grecia, UK, España, etc.

EPP0, Mayo 2024

"Europa se siente"

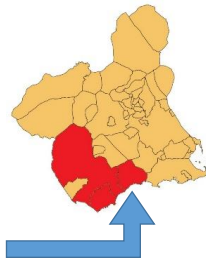


3

Distribución

Distribución en España

- Almería: Vicar, 2019
- Murcia: Cañada de Gallego, 2021
- Alicante
- Sevilla
- Granada
- Gran Canarias
- País Vasco



"Europa se siente"



4

Síntomas en planta

P-1: Falta de desarrollo



P-2: Marchitez



P-3: Necrosis



5

Síntomas en planta

P-3: Necrosis



6

Síntomas en planta

P-4: Aborto de flores / frutos



7

Síntomas en hojas

H-1: Clorosis



H-2: Verrugosidades o abullonado



H-3: Necrosis



H-4: Filimorfismo



8

Síntomas en cáliz

C-1: Coloraciones claras centrales



C-2: Necrosis apicales



9

Síntomas en frutos verdes

F-1: Deformaciones



F-2: Marmoleo o coloración irregular



10

Síntomas en frutos verdes

F-3: Cicatrices



11

Síntomas en frutos verdes

F-4: Necrosis o manchas oscuras



12

Síntomas en frutos verdes

F-5: Frutos abiertos



13

Síntomas en frutos rojos

F-6: Coloración irregular



F-7: Hoyuelos, rugosidades y manchas necróticas



14

Sintomatología

SÍNTOMAS POCO ESPECÍFICOS

La variabilidad de los **síntomas y su intensidad** depende de **factores** como: la variedad, la edad de la planta en el momento de infección, los factores ambientales (T^{as} extremas prolongadas) y la presencia de otros virus (**infecciones mixtas**).

Planta joven: 5-10 días
3-4 días: sistémico



"Europa se siente"



15

Modos de transmisión

- Semillas:**

Principal modo diseminación largas distancias

Los viriones se localizan cubierta y endospermo (no en el embrión) DIFICULTAD EN LA DESINFECCION

El porcentaje transmisión a la planta es bajo, su diseminación por contacto permite rápida propagación

Year	Tomato Seed Lots		Pepper Seed Lots	
	No. Analysed	No. Positives	No. Analysed	No. Positives
2019	16	0	5	0
2020	59	0	31	0
2021	119	1	99	0
2022	203	1	126	2
2023*	175	3	141	1
TOTAL	572	5	402	3
% TOTAL (+)		0,87 %		0,74 %



Origin of the positive seed lots to ToBRFV

Font, I. 2024

**Reglamento de Ejecución (UE)
 entre octubre 2019 y agosto 2023
 LNR analiza 974 importaciones a ToBRFV**

20% → 50% Israel
 100% China
 20% resto

"Europa se siente"



16

Modos de transmisión

- **Insectos:** abejorros, míridos y *Tuta absoluta*



RESEARCH ARTICLE
The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of *Tomato brown rugose fruit virus* contributing to disease spread in tomatoes

Naama Levitzky^{1,2}, Elishava Smith¹, Oded Lachman¹, Neta Luria¹, Yaniv Mirashi^{1,2}, Helen Bakelman¹, Noa Sela¹, Orly Laskar¹, Elad Milrot¹, Aviv Dombrovsky^{1,2*}

Eficacia en la transmisión parece baja

Aunque pueda haber riesgo → seguir usando como base polinización

Eliminación colmenas al final polinización



Entomologia Generalis, Vol. 44 (2024), Issue 2, 289–296
Published online March 27, 2024

Open Access Article

The invasive tomato pest *Tuta absoluta* can transmit the emergent tomato brown rugose fruit virus

Andrea G. Caruso¹, Simona Tortorici¹, Salvatore Davino¹, Sofia Bertacca¹, Arianna Ragona¹, Gabriella Lo Verde¹, Antonio Biondi¹, Emanuela Noris¹, Roberto Rizzo^{1,2}, Stefano Panno¹



17

Trasmisión por *N. tenuis*

N. tenuis insectario

Suelta sobre plantas con ToBRFV en jaulones

Colocación 6 plantas sanas

Mantenimiento de las plantas en condiciones controladas

Evaluación síntomas y análisis ELISA

Resultados

El 16,6% plantas se infectaron

Conclusiones

Hay que verificar con más ensayos

¿Eficacia baja de transmisión?



"Europa se siente"

Cofinanciado por la Unión Europea

Región de Murcia



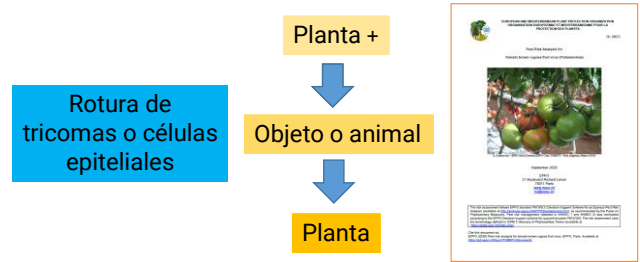
18

Modos de transmisión

- **Mecánica:** labores de poda y recolección. Contacto entre plantas. Injerto.



Análisis riesgo EPPO, 2020



Transmisión con eficiencias muy variables, según elementos e intensidad lesiones

19

Necesidad de daño mecánico

Metodología:

- Inoculación con ToBRFV
- Frotis o no
- Mantenimiento de las plantas en condiciones controladas
- Evaluación síntomas y análisis ELISA

Resultados:

- No se ha detectado infección por el virus cuando no se aplican daños mecánicos
- 100% plantas con ToBRFV con daño físico



"Europa se siente"

Cofinanciado por la Unión Europea

Región de Murcia



20

Hospedantes

SE MANTIENE EN LAS SEMILLAS

Chenopodium murale



Solanum nigrum



Nicotiana glauca



Datura stramonium



Nicotiana tabacum



reported as natural hosts for ToBRFV, including *Amaranthus retroflexus*, *Beta vulgaris* subsp. *maritima*, and *Chenopodium murale* (Amaranthaceae); *Conyza canadensis* and *Taraxacum officinale* (Asteraceae); *Malva parviflora* (Malvaceae); *Oxalis corniculata* (Oxalidaceae); *Portulaca oleracea* (Portulacaceae); *Veronica syriaca* (Scrophulariaceae); *Solanum elaeagnifolium* and *S. nigrum* (Solanaceae); and *Corchorus olitorius* (Tiliaceae).

21

Hospedantes

PIMIENTO (variedades con resistencias a tobamovirus son también resistentes a este virus: no suele haber daños pero podrían multiplicarlo)



MURIEL

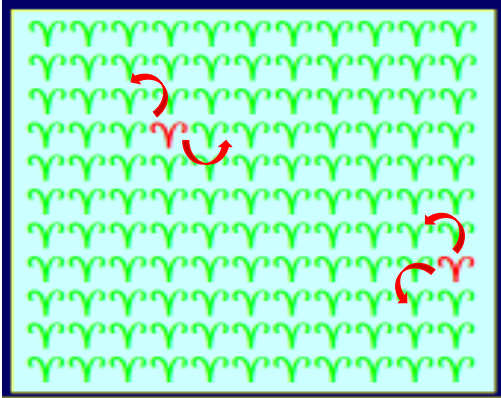


PADRÓN

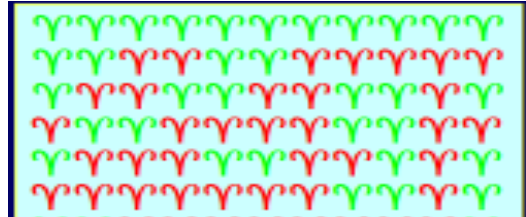
22

Epidemiología

“Contaminaciones primarias”
”Focos primarios”



“Contaminaciones o dispersiones secundarias”



Una vez hay un “foco primario”, la transmisión por las labores habituales en el cultivo, como podas, deshojados o recolecciones, se ha mostrado el método de dispersión más importante

23

Control: focos primarios

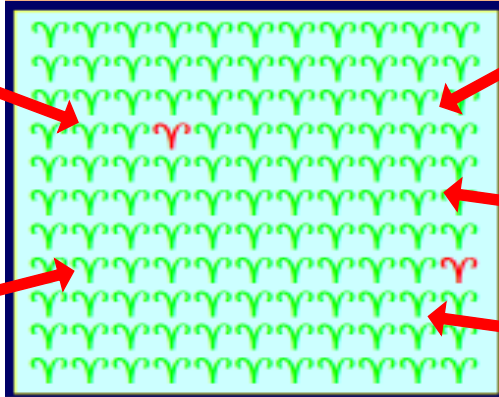
Semillas o plantones



Personas



O NOS VIENEN DE FUERA



24

Control: focos primarios



O LO TENÍAMOS DENTRO



25

Estrategias

No hay una solución única ni sencilla

ESTRATEGIAS INTEGRADAS DE MANEJO, HERRAMIENTAS ADAPTADAS A LAS CARACTERÍSTICAS DE CADA EXPLOTACIÓN



26



27

Proyecto FEDER 2023-27

Proyecto cofinanciado en un 60% por fondos FEDER
y en un 40% por fondos propios de la CARM

▣ Título:

“Virus del tomate y el establecimiento de programas integrales para su prevención y manejo”

▣ **Duración:** May. 2023 – Dic. 2027 (56 meses)

▣ Objetivo principal:

Establecer unas **estrategias eficaces y sostenibles para el manejo del virus rugoso del tomate y de otras virosis emergentes de solanáceas** de acorde a los nuevos riesgos, las tendencias en las prácticas de cultivo y las herramientas disponibles.



"Europa se siente"



Región de Murcia



28

Proyecto FEDER 2023-27

Objetivos específicos:

- 1) Realizar un **estudio epidemiológico de la situación actual** en el cultivo del tomate tras la introducción de nuevas virosis y sus interrelaciones, los efectos de los factores abióticos y de posibles huéspedes alternativos.
- 2) Estudiar los **puntos críticos en la conservación y dispersión** de ToBRFV y de otras nuevas virosis en las condiciones de cultivo de la Región.
- 3) Determinar la **eficacia de diferentes desinfectantes y estrategias** en la limpieza de herramientas, estructuras, suelos, aguas y otros elementos habituales en los sistemas de producción.
- 4) Conocer el **comportamiento agronómico y epidemiológico** de las nuevas **variedades** con diferentes grados de resistencias a ToBRFV y otras virosis.
- 5) **Transferir los conocimientos y las estrategias** derivadas de los trabajos de investigación a los sectores implicados.

"Europa se siente"



29

Proyecto FEDER 2023-27

Objetivos específicos:

- 1) Realizar un **estudio epidemiológico de la situación actual** en el cultivo del tomate tras la introducción de nuevas virosis y sus interrelaciones, los efectos de los factores abióticos y de posibles huéspedes alternativos.
- 2) Estudiar los **puntos críticos en la conservación y dispersión** de ToBRFV y de otras nuevas virosis en las condiciones de cultivo de la Región.
- 3) Determinar la **eficacia de diferentes desinfectantes y estrategias** en la limpieza de herramientas, estructuras, suelos, aguas y otros elementos habituales en los sistemas de producción.
- 4) Conocer el **comportamiento agronómico y epidemiológico** de las nuevas **variedades** con diferentes grados de resistencias a ToBRFV y otras virosis.
- 5) **Transferir los conocimientos y las estrategias** derivadas de los trabajos de investigación a los sectores implicados.

"Europa se siente"



30

Metodología

Recogida de muestras

Encuestas, prospecciones y muestreos en 76 parcelas

Campañas:

✓ 2022/23: Ene. – Abr.

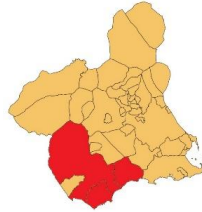
✓ 2023/24: Oct. – Dic.

Zonas productoras de tomate:

✓ **Águilas:** 30 parcelas (13 + 17)

✓ **Mazarrón:** 36 parcelas (23 + 13)

✓ **Zona costera de Lorca:** 10 parcelas (1 + 9)



ENCUESTA – Información recogida



- **Parcela:** ubicación, estructura, dimensiones, tipo de riego y sustrato
- **Material vegetal:** variedad, portainjerto, fecha de trasplante, semillero, inmunoprotección PepMV, etc.
- **Antecedentes en la parcela:** ciclo plantación anterior, actuaciones (rotaciones, solarización, desinfecciones, barbechos, etc.).
- **Antecedentes epidemiológicos:** detección y evolución de síntomas, actuaciones adoptadas, resultados analíticos, etc.
- **Otros datos:** introducción y presencia de insectos auxiliares (míridos), presencia de ácaros (vasates), etc.
- **Medidas de prevención:** uso de vestuario exclusivo, desinfección de guantes y herramientas, desinfección de cajas, manejo de los restos de poda y de las plantas con síntomas, etc.
- **Síntomas de virus:** prevalencia, evolución y distribución, actuaciones adoptadas, etc.

"Europa se siente"



31

Metodología

Análisis de muestras y diagnóstico

1

PCR a tiempo real (RT-qPCR)

con sondas TaqMan

Multivirus (N = 73)



Escala:

- Presencia: Ct < 30
 - No concluyente: 30 < Ct < 35
 - Ausencia: Ct > 35
- Ct = Nº de ciclos a los que se detecta el virus (a más ciclos, menos virus)



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, 1680. <https://doi.org/10.3390/v13091680>

2

Test serológico (ELISA)

ToBRFV y PepMV (N = 33)



Laboratorio de Virología
(Carlos Padilla)

Escala:

- Positivo: OD > 3x control negativo
- Dudoso: 3x > OD > 2x
- Negativo: OD < 2x control negativo

EPPO. 2015. PM 7/125 (1) ELISA tests for viruses. *EPPO Bulletin* 45, 445–449. <https://doi.org/10.1111/epp.12259>

"Europa se siente"



32

Metodología

■ Análisis de muestras y diagnóstico

20 virus analizados por PCR cuantitativa a tiempo real (RT-qPCR)

Acrónimo	Nombre del virus
CMV	Cucumber mosaic virus
EDMV	Eggplant dwarf mottled virus
PMoV	Parietaria mottle virus
PZSV	Pelargonium zonate spot virus
PepMV-CH2	Pepino mosaic virus cepa CH2
PepMV-EU	Pepino mosaic virus cepa EU
ToBRFV	Tomato brown rugose fruit virus
PVX	Potato virus X
PVY	Potato virus Y
TMV	Tobacco mosaic virus

Acrónimo	Nombre del virus
TBSV	Tomato bushy stunt virus
ToCV	Tomato chlorosis virus
ToTV	Tomato torrado virus
TYLCV	Tomato yellow leaf curl virus
ToFBV	Tomato fruit blotch virus
ToLCNDV	Tomato leaf curl New Delhi virus
ToMV	Tomato mosaic virus
ToMMV	Tomato mottle mosaic virus
ToNSV	Tomato necrosis spot virus
TSWV	Tomato spotted wilt virus

"Europa se siente"



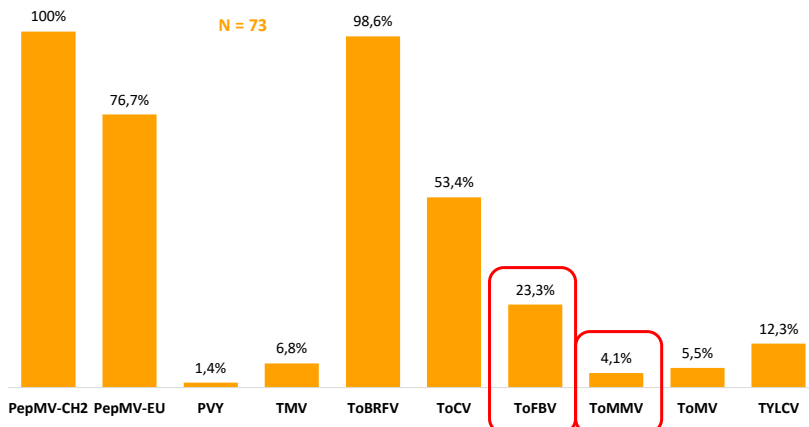
Cofinanciado por la Unión Europea



33

Resultados

■ Virus detectados mediante RT-qPCR (% de muestras)



- Se detectaron un total de **10 VIRUS** de los 20 virus analizados mediante RT-qPCR.
- Los virus más frecuentes fueron: **ToBRFV**, **PepMV-CH2** y **PepMV-EU**, presentes en el 98,6%, 100,0% y 76,7% de las muestras analizadas.
- Los siguientes virus más relevantes fueron el **ToCV** y el **ToFBV**, con una incidencia del 53,4% y 23,3% de las plantas analizadas.

"Europa se siente"



Cofinanciado por la Unión Europea



34

Resultados

Incidencia o carga viral (% de muestras)

	Presencia			No concluyente (30 < Ct < 35)	Ausencia (Ct > 35)
	Alta (Ct < 20)	Intermedia (20 < Ct < 25)	Baja (25 < Ct < 30)		
ToBRFV	56,9	12,5	15,3	15,3	0,0
PepMV-CH2	53,4	15,1	17,8	12,3	1,4
PepMV-EU	58,9	8,9	10,7	16,1	5,4
PVY	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0
TMV	0,0	0,0	0,0	60,0	40,0
ToCV	5,1	33,3	33,3	10,3	17,9
ToFBV	5,9	17,6	11,8	35,3	29,4
ToMMV	0,0	0,0	33,3	66,7	0,0
ToMV	0,0	0,0	0,0	50,0	50,0
TYLCV	22,2	33,3	33,3	0,0	11,1

- En general, la **carga viral** de ToBRFV y de ambas razas de PepMV fue **ALTA** (Ct < 20) en más de la mitad de las muestras analizadas.
- Sin embargo, la carga viral del **resto de virus** encontrados fue generalmente **INTERMEDIA** (20 < Ct < 25), **BAJA** (25 < Ct < 30) o **NO CONCLUYENTE** (30 < Ct < 35) en la mayoría de las muestras analizadas.



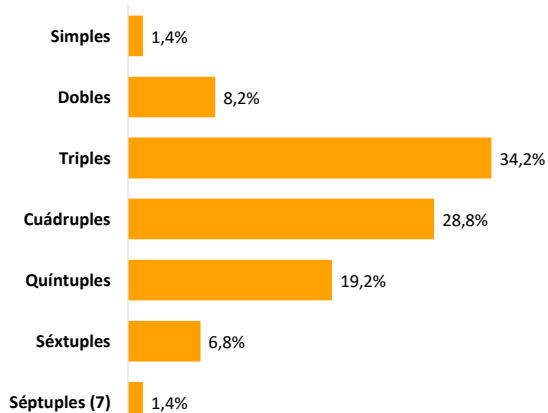
"Europa se siente"



35

Resultados

Infecciones múltiples (% de muestras)



- ToBRFV se detectó formando parte habitualmente de infecciones mixtas con PepMV-CH, PepMV-EU, ToCV o ToFBV.
- Las **infecciones triples** fueron las más comunes, seguidas por las infecciones **cuádruples** y **quintuples**.

⇒ ToBRFV + PepMV-CH + PepMV-EU (24,7%)

⇒ ToBRFV + PepMV-CH + PepMV-EU + ToCV (16,4%)

⇒ ToBRFV + PepMV-CH + PepMV-EU + ToCV + ToFBV (8,2%)

LAS SINTOMATOLOGÍAS QUE SE HAN ENCONTRADO RELACIONADAS CON ToBRFV PROBABLEMENTE SE CORRESPONDEN CON INFECCIONES MÚLTIPLES CON OTROS VIRUS

"Europa se siente"



36

Resultados

Incidencia de ToBRFV según grado de resistencia varietal (% de muestras)

	Sensible (S)	Intermedia (IR)	Alta (HR)
Alta	58,1	33,3	50,0
Intermedia	9,3	16,7	20,0
Baja	11,6	33,3	20,0
No concluyente	20,9	16,7	10,0
Ausencia	0,0	0,0	0,0

Nº de variedades	20	2	6
Nº de plantas	43	6	10
Clorosis (H1) (%)	62,8	66,7	40,0
Verrugosidades (H2) (%)	55,8	50,0	60,0
Clorosis rojo (F6) (%)	46,5	50,0	20,0

- La carga viral de **ToBRFV** fue generalmente **ALTA** (Ct < 20) en la mayoría de las variedades, independientemente de su grado de resistencia.
- El porcentaje de **plantas con síntomas** (clorosis en frutos rojos) fue **MENOR** en las variedades de **ALTA RESISTENCIA (HR)**.

"Europa se siente"



37

Virus del manchado del fruto del tomate

ToFBV: Tomato fruit blotch virus

- Virus emergente del tomate, pero también afecta a patata
- 1ª descripción en Italia (Lacio) en 2018

Daños: ToFBV afecta los frutos del tomate (no síntomas foliares). Los frutos afectados muestran una maduración irregular, manchas y hoyuelos.

Su **sintomatología** se **enmascara** con otros virus por las infecciones mixtas y ha podido ser atribuida a otras virosis (ToMV, ToBRFV, PepMV...)



38

Virus del manchado del fruto del tomate

ToFBV: Tomato fruit blotch virus

Transmisión:

- No de forma mecánica.
- Ácaro (*Aculops lycopersici*) involucrado en la transmisión de la enfermedad.
- ¿Semilla? Posiblemente.

Se **desconocen** muchos aspectos de la **biología**, **epidemiología**, **distribución geográfica**, **rango de huéspedes** e **impacto económico** del ToFBV, es difícil evaluar el riesgo que podría presentar para la región de la EPPO.

Diagnósticos erróneos y **caminos equivocados en la gestión**.

Hospedantes: -Tomate y patata

- Especies de Chenopodium, Malvas y Sonchus

No estable en Restos Vegetales infectados.



Cofinanciado por
la Unión Europea

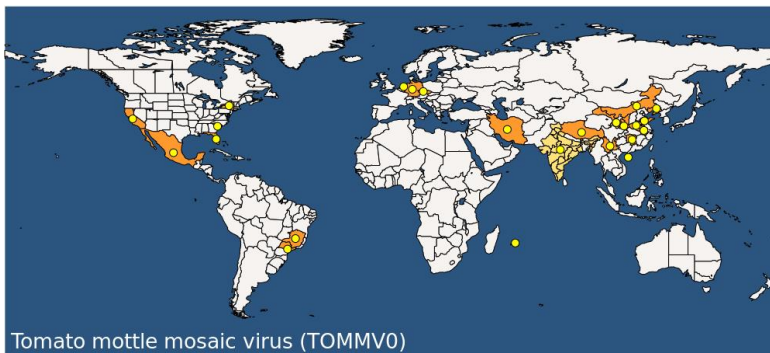


39

Virus del mosaico moteado del tomate

ToMMV: Tomato mottle mosaic virus

- 1ª detección en México 2013 en cultivos de tomate
- Brasil, China, Irán, Mauricio, USA, Rep. Checa, Alemania y Holanda.
- Israel, Francia y España---- ¿ya no está presente?



40

Virus del mosaico moteado del tomate

ToMMV: Tomato mottle mosaic virus



41

Virus del mosaico moteado del tomate

Características

- Hospedantes : **Solanáceas** (Tomate, Pimiento y Berenjena) y **Judía, Guisante**
- Es posible que ToMMV se haya **identificado** erróneamente como **ToMV**.
- Estrechamente **relacionado** con **ToBRFV**
- Supera la resistencia conferida por el gen **Tm-2²**
- **Síntomas** asociados a **Tª altas**
- Variedades **L³, L⁴** se comportan bien frente a ToMMV, no **L¹, L²**
- Trasmisión por **semilla** ¿? POSIBLEMENTE

"Europa se siente"

Cofinanciado por
la Unión Europea

Región
de Murcia



42

MONOGRAFÍA: EL VIRUS RUGOSO DEL TOMATE: bases para una estrategia integrada de manejo

<https://www.imida.es/web/imida/-/el-virus-rugoso-del-tomate-bases-para-una-estrategia-integrada-de-manejo>



"Europa se siente"



43

II Jornada sobre el cultivo del tomate
27 de Junio de 2024



Gracias por su atención

Seguimos trabajando

Carmen M^a Lacasa Martínez

Colaborador científico del IMIDA

carmenm.lacasa@carm.es



"Europa se siente"

44