



Artículo de revisión

***Tobamovirus fructirugosum* una enfermedad emergente: revisión y situación actual en México**

Ubilfrido Vásquez Gutiérrez¹, ¹Departamento de Parasitología Agrícola, Postgrado en Ciencias en Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, #1923, Calzada Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah., CP 25315, México. d_ubilfrido.vazquezG@uaaan.edu.mx. Juan Carlos Delgado-Ortiz^{1,2*}, ²Investigador por México CONAHCYT-UAAAN; Gustavo Alberto Frías-Treviño¹, Luis Alberto Aguirre-Uribe¹, Alberto Flores-Olivas¹.

*Autor de correspondencia:

Juan Carlos Delgado-Ortiz
moe_788@hotmail.com

Sección:
Edición periódica

Recibido:
28 Enero, 2024

Aceptado:
11 Septiembre, 2024

Publicado:
15 Octubre, 2024
Adelantada, 2025

Cita:
Vásquez GU, Delgado-Ortiz JC, Frías-Treviño GA, Aguirre-Uribe LA y Flores-Olivas A. 2025. *Tobamovirus fructirugosum* una enfermedad emergente: revisión y situación actual en México. Revista Mexicana de Fitopatología 43(1): 34. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2401-7>

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. La especie *Tobamovirus fructirugosum* (ToBRFV) es considerado una plaga cuarentenaria a nivel mundial que limita la producción de *Solanum lycopersicum* y *Capsicum annum*, actualmente presente en tres países del continente americano. El objetivo de este trabajo fue profundizar en la variabilidad genética del ToBRFV con respecto a los diversos aislados, la caracterización fisico-molecular y sintomática, los métodos tradicionales y más actuales implementadas para el diagnóstico, rango de hospedantes reservorios del virus, y la epidemiología.

Resultados. ToBRFV se generó de una mutación resultado de la recombinación genética con TMV, considerado principal progenitor y ToMMV progenitor secundario. Análisis filogenéticos reportan la existencia de cinco clados con respecto a la diversidad genética del ToBRFV. Los primeros cebadores para la detección se diseñaron en 2015 que codifican proteínas de replicación, movimiento y cápside. Los métodos serológicos pueden ser utilizados para un diagnóstico preventivo, mientras que las moleculares y NGS pueden confirmar la infección por el virus aún en bajas concentraciones en la planta. Se reportan 16 familias de malezas y cultivos hospedantes, registrados en 47 países. Para lograr una estrategia efectiva, es necesario disminuir las fuentes de inóculo, desarrollar compuestos inhibidores de la transmisión mecánica y el desarrollo de genotipos tolerantes.

Conclusión. ToBRFV está distribuido a nivel nacional, y representa un riesgo fitosanitario para México; el análisis exhaustivo del estudio de técnicas de diagnóstico, rango de hospedantes, diseminación, epidemiología y estrategias de control, contribuye al conocimiento del ToBRFV.



Palabras clave: Diagnóstico, epidemiología, ToBRFV, progreso del virus, variabilidad genética

INTRODUCCIÓN

Los estudios de tobamovirus, han mostrado importancia en todas las áreas del campo agronómico y científico; debido a su diversidad genética, mecanismos de transmisión y adaptación de los virus, evolución del rango de hospedantes, nueva clasificación de taxones y a las interacciones virus-planta (Aiewsakun y Katzourakis, 2016). Se ha postulado que las especies pertenecientes al género *Tobamovirus*, surgieron hace 140-120 millones de años a la par con la aparición de las angiospermas (Gibbs, 1999). En este contexto no existía una interacción planta-patógeno, todo se encontraba en constante homeostasis, por lo que los virus subsistían en plantas silvestres. Sin embargo, con la llegada de las prácticas de agricultura, estos se convirtieron en patógenos de plantas solanáceas y de otras familias (Lartey *et al.*, 1996).

Una de las principales familias es la *Virgaviridae*, la cual está conformado por 5 géneros de virus fitopatógenos, entre ellos el género *Tobamovirus* con mayor importancia a nivel mundial, que constituye a 37 especies (Adams *et al.*, 2017; Dombrovsky *et al.*, 2017a). Los virus conocidos con mayor importancia económica: tobacco mosaic virus (TMV, especie *Tobamovirus tabaci*), tomato mosaic virus (ToMV, especie *Tobamovirus tomatotessellati*), tobacco mild green mosaic virus (TMGMV, especie *Tobamovirus mititessellati*), pepper mild mottle virus (PMMoV, especie *Tobamovirus capsici*), tomato mottle mosaic virus (ToMMV, especie *Tobamovirus maculatessellati*) y tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV, especie *Tobamovirus fructirugosum*) (EPPO, 2023). Siendo el primer tobamovirus, aislado y descrito (Ivanovsky, 1892) fue el TMV, originó una epidemia que empezó causando pérdidas en zonas productoras de tabaco en Países Bajos y que posteriormente se extendió en todas las regiones del mundo (Shen *et al.*, 2013). Posteriormente, años más tarde se descubrieron otras especies como como: yellow tailflower mild mottle virus (YTMMV, especie *Tobamovirus anthocercis*) en Australia, afectando dos especies de solanáceas de ornato (Wylie *et al.*, 2014). El ToMV (Skotnicki *et al.*, 1976) y el ToMMV infectando plantas de jitomate y pimiento en México (Li *et al.*, 2013). Pese a que todas las especies virales pertenecientes a este género son agresivos patógenos emergentes, que han causado pérdidas devastadoras en cultivos, pero ninguna de ellas puede igualarse con el impacto económico del tomato brown rugose fruit virus considerado un virus emergente potencial. Es notable por ser el primer virus vegetal clasificado como causante de una pandemia a nivel mundial tras el SARS-CoV-2 (Salem *et al.*, 2023).

Origen y diversidad genética del ToBRFV

Las especies virales del género *Tobamovirus* son patógenos de importancia en cultivos de solanáceas, destacando por la sintomatología que inducen y la necesidad de métodos serológicos específicos para su identificación. A pesar de ello algunos síntomas producidos son similares entre las especies que las ocasionan, como son: TMV, ToMV, ToMMV y ToBRFV (Alon *et al.*, 2021). Algunos estudios reportan que TMV, ToMV y ToBRFV pueden producir infecciones mixtas en plantas de jitomate lo que dificulta su diagnóstico (Jamous *et al.*, 2022; Yan *et al.*, 2021a). ToBRFV fue identificado por primera vez en 2014 en una provincia de Ohad al sur de Israel. Posteriormente, un brote en viveros de jitomate en Jordania, condujo al aislamiento nombrado como “Tom1-jo”, y el nuevo virus fue denominado tomato brown rugose fruit virus (Salem *et al.*, 2016; Luria *et al.*, 2017). A través de análisis filogenéticos que incluyeron TMV, ToMV, ToMMV y BPMV Salem *et al.* (2016) validaron a ToBRFV como una nueva especie dentro del género *Tobamovirus*. Por otro lado (Luria *et al.*, 2017) a partir de postulados de Koch, microscopía electrónica de transmisión (MET), determinación parcial de rango de hospedantes, y análisis de antisueros para descartar reactividad cruzada con otros virus, concluyeron que el aislamiento ToBRFV-IL mostró una alta identidad con el aislamiento jordano.

Los estudios biogenómicos actuales sobre ToBRFV, a raíz de nuevos brotes, han demostrado una variabilidad genética, con más del 99 % de identidad entre distintos aislamientos (Chanda *et al.*, 2020). Eichmeier *et al.* (2023) encontraron una similitud del 99.3 al 100 % entre 50 genomas de ToBRFV, mientras que Zhang *et al.* (2022) diferenciaron claramente a los aislamientos de ToBRFV de TMV y ToMV en un estudio de 78 secuencias genómicas. Yan *et al.* (2021b) reportaron más del 99.6 % de similitud entre los aislamientos Tom1-Jo “KT383474.1”, ToBRFV IL y ToBRFV MX, sugiriendo un ancestro común para todos los aislamientos de ToBRFV (Oladokun *et al.*, 2019). Además, se ha identificado la recombinación de ToBRFV con otras especies virales, señalando a ToMMV como un progenitor secundario y a la cepa Ohio V de TMV como el principal progenitor (Salem *et al.*, 2016).

Un análisis filogenético basado en el gen ORF4/CP (Figura 1), agrupó a 134 aislamientos de Turquía, en el primer clado, mientras que 49 aislamientos se ubicaron en el segundo (Çelik *et al.*, 2022). Dos aislamientos franceses “MW284988.1, MW284987.1” fueron clasificados en el tercer clado, mientras que 12 aislamientos de distintas regiones que incluyen EE. UU. (MT002973.1), México (ToBRFV-MX-CP “MK319944.1, MW349655.1”), Holanda y Países Bajos “MW314116.1”, Italia “OK62464678.1”, Bélgica (OM515231.1) y Reino Unido (ToBRFV.21930919) formaron el quinto grupo (Van de Vossenbergh *et al.*, 2020. Abrahamian *et al.* (2022) revelaron un análisis filogenético de aislados provenientes de EE. UU., México y

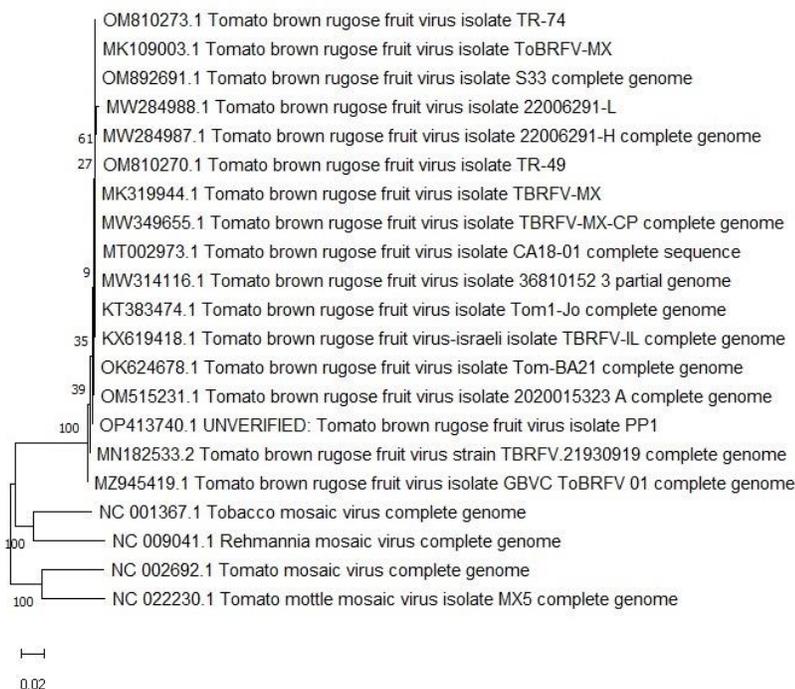


Figura 1. Análisis filogenéticos de secuencias reportadas en el NCBI de ToBRFV. Para la reconstrucción del árbol filogenético se utilizó el software Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11 mediante el modelo de Neighbor joining con 10,000 réplicas (Bootstrap). Con una distancia genética de 0.02.

Perú, donde reportan que la mayoría de estos se agrupan en el clado tres, evidenciando una diversidad genética limitada entre aislados a nivel mundial. Eichmeier *et al.* (2023) analizaron el genoma completo del virus, identificaron al aislamiento checo de ToBRFV “OP413740.1” como perteneciente a un grupo independiente dentro del quinto clado, diferenciándolo de otros aislamientos europeos. Este panorama subraya la complejidad de la genómica de ToBRFV y la influencia de múltiples factores en su evolución y relación con los hospedantes.

Características físico-moleculares del ToBRFV

El ToBRFV posee partículas con forma de varillas rígidas de 300 nm de largo y 18 nm de diámetro. El genoma es de ARN monocatenario de sentido positivo (ARNss+) de ~6,400 nt. Con cuatro marcos de lecturas abiertos (ORF1, 2, 3 y 4) distintos, que codifican dos complejos de proteínas relacionadas con la replicación de 126 kDa (ORF1a) y 183 kDa (ORF1b), la proteína de movimiento (PM) de ~30 kDa (ORF2) y la proteína de cubierta (PC) de ~17.5 kDa (ORF3), expresadas mediante ARN subgenómicos coterminales (Eichmeier *et al.*, 2023). Así mismo la

proteína 126 kDa tiene la capacidad de actuar como silenciador del ARN, mientras que la PM 30 kDa facilita la translocación del virus de célula a célula (Zhang *et al.*, 2022). Se ha señalado que la estrategia de control del ToBRFV se centra en la PC, la cual juega un papel crucial en el ensamblaje de las partículas virales y su desplazamiento a larga distancia dentro de la planta hospedera (Ishikawa *et al.*, 2022).

Descripción de sintomatología

ToBRFV es un tobamovirus que se distingue por causar una variedad de síntomas en sus hospedantes, los cuales varían dependiendo del tipo de planta hospedante que afecta, la estación, la temperatura, las condiciones de crecimiento (invernadero o cielo abierto) y la edad de la planta en el momento de la infección (Caruso *et al.*, 2022). Estos síntomas tanto directos como indirectos impactan negativamente en la calidad y el valor comercial de los frutos, resultando en pérdidas significativas de la cosecha (Menzel *et al.*, 2019). El desarrollo de los síntomas puede variar según el cultivo y las condiciones ambientales (Figura 2A y C). En jitomate los síntomas



Figura 2. Síntomas manifestados en jitomate por ToBRFV cultivados en invernadero. A) Plantas de jitomate a 180 días de la siembra mostrando alta incidencia de ToBRFV; B) Irregularidades en la maduración de los frutos; C) Plantas en estado de colapso debido a la severidad alta de ToBRFV; D) Presencia de mosaicos, moteados y ampollamientos en las hojas.

son sistémicos, mientras que en plantas como *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa*, *N. clevelandii*, *N. benthamiana*, *Chenopodium amaranticolor* entre otras especies, los síntomas son principalmente locales (Chanda *et al.*, 2021; Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2024). Aunque, los tobamovirus en general comparten expresión de síntomas similares, como mosaicos y amarillamientos, ToBRFV se caracteriza por inducir un síndrome más severo que cualquier otra especie dentro de este género. Entre los síntomas foliares destacan mosaicos, ampollamientos, enrollamientos, deformaciones (Figura 2D), reducción de la lámina foliar y retraso en el crecimiento; mientras que en frutos se observan deformación, manchas marrones, moteados, maduración irregular (Figura 2B), manchas amarillas y necrosis tanto externa como interna (González-Concha *et al.*, 2023; Jewehan *et al.*, 2022a; Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2023a; Zhang *et al.*, 2022). Esta diversidad de manifestaciones subraya la importancia de identificar y gestionar eficazmente la presencia de ToBRFV para minimizar su impacto en la producción agrícola.

Métodos de diagnóstico

Los métodos de diagnósticos inician a partir de la identificación de síntomas en planta, la observación de oscuros mosaicos, deformación y estrechamiento en hojas en los brotes jóvenes apicales y rugosidad color marrón en frutos, confirma la presencia de ToBRFV (Alfaro-Fernández *et al.*, 2021). En la actualidad existen alternativas para la identificación y detección del ToBRFV, estas se pueden clasificar en diferentes tipos: diagnóstico por plantas diferenciales, microscopía electrónica de transmisión (MET), serológico, tiras reactivas y moleculares (González-Garza, 2017).

Diagnóstico por plantas diferenciales. Los tobamovirus poseen característica de expresión sintomática distintiva que permite diferenciarlos de otros géneros (Roistacher, 1991). Hace algunos años se consideraba que ToBRFV sólo podía infectar de forma natural pimiento y jitomate como hospedantes naturales susceptibles (Luria *et al.*, 2017), estudios recientes demuestran que ToBRFV puede infectar de forma natural *Convolvulus arvensis* y *Polycarpon tetraphyllum* y servir como reservorio (Cultrona *et al.*, 2024); sin embargo, Vásquez-Gutiérrez *et al.* (2024) identificaron que ToBRFV podía infectar 21 hospedantes de manera natural, confirmados por ELISA.

ToBRFV puede infectar más de 40 especies pertenecientes a cuatro familias: *Amaranthaceae*, *Apocynaceae*, *Asteraceae* y *Solanaceae* (Cuadro 1). Dado su cercanía filogenética con ToMV, ToBRFV tiene un rango de hospedantes similar (Chanda *et al.*, 2020). La utilización de plantas diferenciales amplía la capacidad de diagnóstico para ToBRFV dado a la respuesta de hipersensibilidad (RH), aunque

Cuadro 1. Respuesta de hipersensibilidad en rango de hospedantes susceptibles a ToBRFV.

Hospedante/Sintomatología observada	Referencias
Amaranthaceae <i>Gomphrena globosa</i> ^{3, 18} , <i>Amaranthus viridis</i> ¹⁴	Salem <i>et al.</i> , 2022
Asteraceae <i>Emilia sonchifolia</i> ^{9, 10, 21} , <i>Glebionis coronaria</i> ^{3, 20} , <i>Lactuca serriola</i> ⁴ , <i>Verbesina enciolooides</i> ¹⁴ , <i>Bidens pilosa</i> ¹⁴ , <i>Helianthus annuus</i> ¹⁴ , <i>Sonchus oleraceus</i> ¹⁴ , <i>Titonia tubaeformis</i> ¹⁴	Sabra <i>et al.</i> , 2022; Salem <i>et al.</i> , 2022; Matzrafi <i>et al.</i> , 2023; Luria <i>et al.</i> , 2017; Chanda <i>et al.</i> , 2021a; Vásquez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2024
Labiatae <i>Marrubium vulgare</i> ^{13, 21}	Vásquez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2024
Solanaceae <i>Salanum lycopersicum</i> ^{3, 11, 23} , <i>S. eleagnifolium</i> ¹ , <i>S. rostratum</i> ^{4, 20, 21, 22} , <i>S. melongena</i> ¹ , <i>S. arcanum</i> ^{8, 19, 20, 22, 24} , <i>S. Cheesmaniae</i> ^{7, 16, 19, 22} , <i>S. habrochaites</i> ^{3, 7, 16} , <i>S. nigrum</i> ^{3, 4, 12, 18, 20} , <i>S. pennellii</i> ^{3, 8, 22} , <i>S. peruvianum</i> ^{3, 8, 16, 22} , <i>S. pimpinellifolium</i> ^{3, 8, 16, 22} , <i>S. tuberosum</i> ^{1, 7, 21} , <i>S. sitiens</i> ³ , <i>Nicotiana glutinosa</i> ^{5, 10} , <i>N. tabacum</i> Samsun ^{3, 5, 10, 20} , <i>N. occidentalis</i> subsp. <i>Hesperis</i> ^{5, 15} , <i>N. benthamiana</i> ^{2, 6, 5, 15, 21, 22} , <i>N. clevelandii</i> ^{3, 10, 21} <i>N. sylvestris</i> ^{3, 10} , <i>N. rustica</i> ^{2, 12, 14, 28} , <i>N. longiflora</i> ¹² , <i>N. glauca</i> ¹⁴ , <i>Petunia hybrida</i> ³ , <i>Physalis</i> <i>angulata</i> ³ , <i>P. pubescens</i> ^{5, 7} , <i>Datura stramonium</i> ^{10, 14} , <i>Capsicum annum</i> ^{3, 5, 8, 13, 21}	Matzrafi <i>et al.</i> , 2023; Salem <i>et al.</i> , 2022; Yan <i>et al.</i> , 2021a; Sabra <i>et al.</i> , 2022; Jewehan <i>et al.</i> , 2022b; Chanda <i>et al.</i> , 2021a; Zhang <i>et al.</i> , 2022; Vásquez- Gutiérrez <i>et al.</i> , 2024; Luria <i>et al.</i> , 2017; Ortiz-Martínez <i>et al.</i> , 2021
Chenopodiaceae <i>Chenopodium berlandieri</i> ^{12, 18} , <i>Ch. amaranticolor</i> ¹⁴ , <i>Ch. album</i> ^{8, 12, 17} <i>Ch. quinoa</i> ^{10, 12, 17, 18} , <i>Ch. glaucum</i> ¹² , <i>Ch. Murale</i> ¹⁴	Chanda <i>et al.</i> , 2021a; Luria <i>et al.</i> , 2017; Sabra <i>et al.</i> , 2022; Sabra <i>et al.</i> , 2022; Salem <i>et al.</i> , 2016; Sabra <i>et al.</i> , 2022; Vásquez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2024
Convolvuláceae <i>Ipomoea purpurea</i> ^{4, 7}	Vásquez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2024
Apocynaceae <i>Catharanthus roseus</i> ¹	Chanda <i>et al.</i> , 2021a
Malvaceae <i>Malva parviflora</i> ²¹ , <i>Malva neglecta</i> ¹⁴ , <i>Malvastrum coromandelianum</i> ¹⁴	Salem <i>et al.</i> , 2022; Vásquez-Gutiérrez <i>et</i> <i>al.</i> , 2024
Nyctaginaceae <i>Mirabilis jalapa</i> ^{4, 21, 7, 24}	
Oxalidaceae <i>Oxalis latifolia</i> ¹⁴	
Resedaceae <i>Reseda luteola</i> ¹⁴	
Araliaceae <i>Hedera hélix</i> ¹⁴	Vásquez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2024
Plantaginaceae <i>Plantago lanceolata</i> ¹⁴	
Polygonaceae <i>Polygonum convolvulus</i> ¹⁴	
Ranunculaceae <i>Clematis drummondii</i> ^{4, 7, 21, 24}	
Euphorbiaceae <i>Ricinus comunis</i> ¹⁴	

¹asintomático; ²muerte de la planta; ³mosaico; ⁴mosaico; ⁵necrosis; ⁶ampulaciones; ⁷Distorsión de hojas; ⁸deformación; ⁹puntos negros locales; ¹¹atrofia en plantas ¹²Lesiones locales necróticas, ¹³manchas necróticas, ¹⁴lesiones locales cloróticas, ¹⁵Muerte de la planta, ¹⁶formación de ampollas, ¹⁷clorosis, ¹⁸mancha anular necrótica, ¹⁹estrechamiento de hojas, ²⁰moteado, ²¹amarillamiento, ²²enrollamiento de hojas, ²³achaparramiento, ²⁴hoja deformada.

puede complicarse por expresiones mixtas de diferentes especies de tobamovirus (González *et al.*, 2017). El efecto de la inoculación mecánica del ToBRFV en plantas experimentales, desencadena una RH en el hospedante, de tal forma que aísla las partículas virales del ToBRFV, limitando la colonización sistémica del hospedante (Fidan *et al.*, 2021). Diversos autores han estudiado el rango de hospedantes experimentales para ToBRFV, principalmente son especies de las familias: *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae* y *Solanaceae*, mientras que, no infecta a especies de *Brassicaceae*, *Cucurbitaceae* y *Verbenaceae* (Yan *et al.*, 2021a; Chanda *et al.*, 2021a). Las plantas indicadoras muestran síntomas sistémicos y locales, aunque algunas como *Solanum tuberosum* y *S. melongena* permanecen asintomáticas (Yan *et al.*, 2021b). Sin embargo, en un reciente estudio realizado por Vásquez-Gutiérrez *et al.* (2024) reportaron que *Solanum tuberosum* al permanecer en contacto con plantas de jitomate infectadas con ToBRFV, expresaron síntomas visuales de amarillamiento, deformación de hojas, reducción de tamaño, los cuales fueron confirmados mediante ELISA.

Hospedantes alternos. ToBRFV ha demostrado ser uno de los patógenos con amplio rango de hospedantes potenciales, incluyendo cultivos y diversas malezas (Chanda 2021a; Zhang *et al.*, 2022; Matzarafi *et al.* (2023) (Cuadro 1). Las malezas juegan un papel importante en la diseminación del inóculo ToBRFV (Matzarafi *et al.*, 2023), lo que subraya la importancia de una gestión integral que incluya el control de malezas para limitar la propagación del virus.

Diagnóstico microscópico. Los métodos microscópicos son considerados factores importantes en el diagnóstico, pero representan una imprecisión, debido a la variabilidad en el tamaño de las partículas virales entre diferentes especies (Luria *et al.*, 2017). La microscopía óptica especialmente cuando se combina con técnicas de fluorescencia es una herramienta que apoya al diagnóstico de tobamovirus mediante inclusiones virales en tejidos vegetales (Pepperkok y Ellenberg, 2006). La clasificación de virus mediante inclusiones virales se realiza por géneros, dado que la mayoría de las especies de tobamovirus, poseen la particularidad de formar inclusiones hexagonales y en forma de aguja como el tobacco mosaic virus (Khamphirapaeng *et al.*, 2017), que a comparación del potato virus Y (especie *Potyvirus vituberosi*), producen cuerpo amorfo esférico (Guo *et al.*, 2022). Anteriormente las inclusiones del ToBRFV no habían sido descritas, recientemente en un estudio por Vásquez-Gutiérrez *et al.* (2024) reportaron la formación de cuerpos X, placas redondeadas y apiladas, como respuesta de infección al ToBRFV en tejidos de jitomate y tabaco. El microscopio electrónico de transmisión (MET), ha contribuido desde el primer avistamiento de ToBRFV por (Luria *et al.*, 2017) para la identificación morfológica del virus (Zhang *et al.*, 2022), considerado a tal punto, como uno

de los métodos clásicos para visualizar tejidos vegetales (Home *et al.*, 2018). El diagnóstico mediante MET brinda ventajas para la caracterización de las partículas virales, basándose en la clasificación de características morfológicas (Kitajima *et al.*, 2004). El inconveniente de la MET es que representa una imprecisión, ya que las partículas virales no suelen ser del mismo tamaño, lo que dificulta su identificación (Luria *et al.*, 2017). La microscopía electrónica también puede utilizarse para detectar alteraciones celulares durante las infecciones por ToBRFV, relacionadas con las inclusiones virales. A pesar de ser un patógeno recientemente identificado, la MET resultó ser un método importante, para su caracterización viral, y la observación de partículas virales.

Luria *et al.* (2017); Cambrón-Crisantos *et al.* (2019); Eichmeier *et al.* (2023); Fidan *et al.* 2021); Levitzky *et al.* (2019); Mahillon *et al.* (2022) iniciaron muestreando folíolos y frutos infectados de jitomate cv. Mose e Ikram, con síntomas inusuales, posteriormente purificaron el virus desconocido de acuerdo con la descripción de Cohen *et al.* (2000). Con esto obtuvieron que las partículas virales mostraban un tamaño promedio de 265.6 ± 56.2 nm de largo y 19 ± 1.41 nm de diámetro, también mencionan que las partículas virales difieren de la procedencia de la muestra, pueden ser varillas cortas y alargadas.

Detección serológica de ToBRFV. La detección serológica de ToBRFV emplea técnicas como el Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas tipo Sandwich de Doble Anticuerpo (DAS-ELISA), la inmunofluorescencia *in situ* y el Western blot para identificar la presencia del virus. Anteriormente estos métodos carecían de especificidad dificultando la distinción entre ToBRFV y especies relacionadas como TMV y ToMV, posiblemente debido a la reactividad cruzada entre los anticuerpos y la proteína de la cubierta (CP) de diferentes tobamovirus. Luria *et al.* (2017) caracterizaron serológicamente al ToBRFV, generando anticuerpos para la detección de la PC del virus, mediante DAS-ELISA con una dilución de (1: 12,000). El análisis de la especificidad de los anticuerpos contra el virus mostró una ligera reactividad cruzada con TMV y PMMoV. En campo es inusual que haya síntomas del virus con estas concentraciones virales, por lo que el diagnóstico que se realiza proviene directamente de folíolos sintomáticos con presencia del virus, lo que aumenta la precisión de resultados con DAS-ELISA.

Yan *et al.* (2021b) desarrollaron anticuerpos monoclonales que reconocen específicamente la PC de ToBRFV sin reaccionar con TMV y ToMV, mejorando la sensibilidad y especificidad del diagnóstico. Eads *et al.* (2023) validaron una técnica DAS-ELISA Agdia® con sensibilidad analítica (64 a 320 pg mL^{-1}) y una especificidad alta para ToBRFV, sin embargo, encontraron que produce una reacción cruzada con otros tobamovirus TMV, ToMV, ToMMV, con un límite analítico de detección superior a $10\ 000$ ng mL^{-1} de virus purificado. Luria *et al.* (2017) implementaron el

método Western blot para diagnóstico con anticuerpos policlonales específicos para ToBRFV, analizando la intensidad de las bandas de la PC a través de una prueba t-student. El principio de la prueba western blot es similar a la técnica ELISA a partir de anticuerpos policlonales para la PC del ToBRFV. La inmunofluorescencia *in situ*, complementada por técnicas como el uso de fluoróforos específicos para microscopía de barrido láser, permite la detección directa de ToBRFV en muestras infectadas, diferenciando entre distintos tobamovirus (Klap *et al.*, 2020). Por otro lado, la prueba de inmunofluorescencia para microscopía de barrido láser se basa en la conjugación de los anticuerpos con Alexa Fluor 594® que es un fluoróforo brillante y estable capaz de emitir un rango rojo del espectro de color, corroborando la presencia de ToBRFV en la muestra analizada (Salem *et al.*, 2022). Otra de las variantes aplicadas a la inmunofluorescencia, es la tinción de semillas, tejidos vegetales y raíces, para la hibridación *in situ* por fluorescencia y detección microscópica. Para esto se tiñen los tejidos con una tinción de Alexa fluor 594®, para su posterior hibridación, y observación en un microscopio (Ragasová *et al.*, 2022). Estos métodos serológicos contribuyen no sólo para un diagnóstico más certero, sino, también para caracterizar el efecto fisicoquímico del ToBRFV en el hospedante infectado, ofreciendo herramientas valiosas para el manejo y control del virus.

Diagnóstico con tiras reactivas. Actualmente, el interés de encontrar nuevas alternativas que permitan un diagnóstico rápido del virus bajo condiciones de campo ha cobrado relevancia (Fillmer *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2019). Con la aparición del ToBRFV (Salem *et al.*, 2016; Luria *et al.*, 2017) se empezaron a emplear ensayos inmunocromatográficos rápidos con tiras inmunológicas para las detecciones de virus de plantas, esto tomó relevancia en los últimos años, dado a su sensibilidad y diagnóstico rápido en condiciones de campo (Byzova *et al.*, 2009). Las tiras inmunológicas Agdia® para ToBRFV, poseen especificidad para aislamientos detectados en Israel, Países Bajos, Italia, Alemania y México, que validan la detección previa durante el monitoreo en campo (Levitzky *et al.*, 2019; Eldan *et al.*, 2022). Aun cuando el límite de detección del ToBRFV es de 200 ng mL⁻¹, se han reportado reacciones cruzadas con virus pertenecientes al mismo género. Las tiras inmunológicas Agdia® para ToBRFV pueden reaccionar de forma cruzada con TMV, ToMV y ToMMV a bajas concentraciones del virus, por lo que la prueba debe validarse mediante ensayos moleculares (Wilstermann y Ziebell, 2019). Recientemente Eads *et al.* (2023) evaluaron el límite de dilución para detección de ToBRFV de 1: 259,000 en tejido infectado con 64-320 pg mL⁻¹ de virus purificado; por otro lado, validaron la utilización de tiras inmunológicas Agdia® para ToBRFV, donde reportan una leve reacción cruzada con TMV y ToMV, con un límite analítico de detección de 200 ng mL⁻¹ de virus purificado, aun así, las tiras inmunológicas no mostraron reacción cruzada con otras especies parentales a ToBRFV. Además de

384 muestras positivas a ToBRFV todas resultaron ser positivas utilizando las tiras inmunológicas (Figura 3 A y B).



Figura 3. Procedimiento de detección rápida para ToBRFV con tiras inmunológicas Agdia®. A) selección de tejido sintomático (hojas jóvenes); B) Macerado y reacción positiva a ToBRFV, donde se observa la línea de control y la línea de prueba (ambas en color rojo).

Técnicas moleculares para la detección de ToBRFV. La detección temprana mediante diagnóstico molecular del ToBRFV representa una oportunidad para reducir el riesgo de entrada y propagación del virus (Luigi *et al.*, 2022) por ello, se han desarrollado diferentes protocolos que se basan en la amplificación de ácidos nucleicos los cuales incluyen: reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa (RT-PCR), PCR cuantitativa con transcripción reversa (RT-qPCR), y PCR digital (ddPCR) para detección en folíolos, frutos y semillas (Panno *et al.*, 2019b; Rodríguez *et al.*, 2019; Chanda *et al.*, 2021b; Yan *et al.*, 2021b; Menzel y Winter, 2021). El desarrollo de estas técnicas moleculares ha cobrado relevancia para ampliar las estrategias de diagnóstico del virus en tiempo real. Debido a la variación de resultados y la eficacia de los métodos moleculares existentes, continuamente se han desarrollado nuevas técnicas que permiten la detección específica de genes en las proteínas virales del ToBRFV. Estos cebadores descritos en el Cuadro 2, se emplean para el diagnóstico preventivo del ToBRFV, lo cual reduce el riesgo de entrada a países con ausencia del virus.

Vargas-Hernández *et al.* (2022) implementaron un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa digital en gotas (ddPCR) que permite la detección del virus

Cuadro 2. Cebadores reportados para la detección de ToBRFV a nivel Internacional.

Tejido de detección	Iniciadores	Secuencias de nucleótidos 5' a 3'	Región blanco	Tamaño del amplicón	Autores
Foliolos y frutos	ToBRFV-F ToBRFV-R	AACCAGAGTCTTCCTATACTCGGAA CTCWCCATCTCTTAATAATCTCCT	RdRp ¹	475 bp	Rodríguez <i>et al.</i> , 2019
	TBRFV-F-5722 TBRFV-R-6179	CACAATCGCAACTCCATCGC CAGAGGACCATTGTAAACCGG	PC ¹	458 bp	Panno <i>et al.</i> , 2019a
Foliolos	AB5520F AB5598R	GTAAGGCTTGCAAAAATTCGTTCG CTTTGGTTTTTGTCTGGTTTTTCGG	PC ¹	101 bp	Panno <i>et al.</i> , 2019b
Foliolos y frutos	ToBRFV-F-Alk ToBRFV-R-Alk	AATGTCCATGTTTGTACGCC CGAATGTGATTTAAAACCTGTGAAT	RdRp ¹	560 bp	Alkowni <i>et al.</i> , 2019
Foliolos y frutos	ToBRFV-F ToBRFV-R	GAAGTCCCGATGTCTGTAAGG GTGCTACGGATGTGTATGA	PC ¹	842 bp	Ling <i>et al.</i> , 2019
Foliolos, frutos y semillas	ToBRFVqs1 ToBRFVp1 ToBRFVqas2	CAATCAGAGCACATTTGAAAGTGCA FAM-ACAATGGTCCTCTGCACCTG-BHQ1 CAGACACAATCTGTTATTTAAGCATC	PC ²	96 bp	Menzel and Winter, 2021
Foliolos	CP FOR CP REV	AGAACAACCGTTCAACGGCAATTTA CTCAAGATGCAGGTGCAGAGGACCATTGT	PC ⁴	359 bp	Magaña-Álvarez <i>et al.</i> , 2021
Foliolos, frutos y semillas	CaTa28-FW CaTa28-Pr CaTa28-Rv	GGTGGTGTCAGTGTCTGTTT FAM-AGAGAATGGAGAGAGCGGACGAGG -BHQ1 GCGTCCTTGGTAGTGATGTT	PM ³	139 bp	Federación Internacional de Semillas, 2020
Foliolos y semillas	CSP13251Fw CSP1325 Pr CSP1Rv	CATTTGAAAGTGCATCCGGTTT HEX-ATGGTCCTCTGCACCTGCATCTTGAGA -BHQ1 GTACCACGTGTGTTTGCAGACA	PC ³	100 bp	Federación Internacional de Semillas, 2020
	AB-620 AB-621	CAGATGTGTCGTTGGTCAGAT CATCACTACGGTGTAAATACTTC	PM1 y PM2, ORF ⁵	144 bp	Bernabé-Orts <i>et al.</i> , 2022*
Foliolos	ToBRFV-R1 ToBRFV-P1	GCCCATGGAACATATCAGAAGAA TTCCGGTCTTTCGAACGAAAT	PM ³	92 bp	Chanda <i>et al.</i> , 2021a*
Foliolos, frutos y semillas	F ToBRFV_F3 ABRFV_B3	TTGGAGTCTTAGATGTTGCG GGACACCGTCAACTAGGA	PM ⁶	279 bp	Sarkes <i>et al.</i> , 2020; Rizzo <i>et al.</i> , 2021
	F-3666 R-4718	ATGGTACGAACGGCGGCAG CAATCCTTGATGTGTTTAGCAC	RdRp ¹	1052 bp	Luria <i>et al.</i> , 2017
Foliolos	ToBRFV-1534-F ToBRFV-3733-R	AGATTTCCTGGCTTTTTGGA ATCATCGCCACCAAATTTTC	RdRp ¹	1052 bp	Yan <i>et al.</i> , 2019

Cuadro 2. Continúa.

Tejido de detección	Iniciadores	Secuencias de nucleótidos 5' a 3'	Región blanco	Tamaño del amplicón	Autores
Foliolos	ToBRFV MP1-59-F1	GAAGTTTGTTTATAGATGGCTCTTGTTA- AGGGTAAA	PM ¹	15 bp	Yan <i>et al.</i> , 2021a ^A
	ToBRFV MP1-59-R	GTATCCACTATCGATGAGTTTTACACCTT- TAAGTAAATTGAC			
	ToBRFV MP60-126-F	AAAGGAGTTAAGCTTATTGATGGTGGC- TATGTACAT	PM ¹	15 bp	
	ToBRFV MP60-126-R	TGCGTCCTGGGTGGTGTGTTGTAATTTG- GAACGACT			
	ToBRFV MP127-186-F	GACGGAGGTCCCATGACTACCAAGGACG- CAGAAA	PM ¹	15 bp	
	ToBRFV MP127-186-R	TTCTTCTGTAAGTTCCATGGGCCCTCCATC			
	ToBRFV MP187-266-F	GACGGAGGTCCCATGGAAGTAT- CAGAAGAAGTTGTTGATG	PM ¹	15 bp	
ToBRFV MP187-266-R1	TTGTGTAAGATCTATTTAATACGAATCT- GAATCGGC				
ToBRFV-CP-detection-FToBRFV-CP-detection-R	ATGTCTTACACAATCGCAACTC TCAAGATGCAGGTGCAGAG	PC ¹	1019 bp		
q-ToBRFV CP-Fq-ToBRFV CP-R	AAATCAGGCGAACCCG GCAGAGGACCATTGTAAACC	PC ¹	173 bp		
q-ToBRFV RdRp-Fq-ToBRFV RdRp-R	CAATACCTTGGTCAACGAT TTGGGCATACAGCAGTG	RdRp ¹	329 bp		

Técnica: ¹RT-PCR punto final; ²RT-qPCR; ³RT-qPCR multiplex; ⁴SeqPCR; ⁵CRISPR/Cas; ⁶LAMP; ^ACebadores utilizados en el estudio reportado por dicho autor; *monitoreo en tiempo real; RdRp: ARN polimerasa dependiente de ARN; PM: proteína del movimiento.

partiendo de plásmidos recombinantes que codifican un gen específico de la cubierta del virus. Siendo el primer reporte de detección de ToBRFV en semillas de jitomate usando ddPCR. Sin embargo, la técnica no se ha implementado masivamente para su aplicación en campo. Otro método reciente es la aplicación de AmplifyRP XRT, una técnica basada en el principio molecular, que utiliza la amplificación de

la polimerasa recombinasa. Esta técnica está diseñada para ser una herramienta híbrida de detección en campo y/o laboratorio. Por tanto, se considera como una técnica altamente sensible y precisa, con una sensibilidad analítica de $16 \text{ fg } \mu\text{L}^{-1}$ y una especificidad analítica que abarca a todos los aislamientos del ToBRFV, sin producir reacciones cruzadas (Eads *et al.*, 2023).

La detección basada en la amplificación isotérmica por bucle (LAMPe) ofrece una alternativa eficiente y sólida para el diagnóstico de ToBRFV. Sarkes *et al.* (2020) describen el principio de esta técnica que se basa en la especificidad de un conjunto de cebadores; F3: TTGCAAGTCTTAGATGCG, B3: GGACACCGTCACTAGG con un tamaño de 279 pb. FIP(F1c+F2): CCTTCTCCAAGTGTGCAAGTACATGCTAGGAAGTACCAC, BIP (B1c+B2) CCGTGAGTTCTGAGTCAATGGTTGAGGCTCACCACCATCTCTTAA y loopF; CTCCATGCTCATCATACCAA. Los ensayos en LAMP se realizan en una máster mix colorimétrica de LAMP WarmStart (NEB Canadá). El programa de reacción consiste en un solo paso, donde los tubos se incuban a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 min, después de la incubación las reacciones se visualizan y los resultados se registran en fotografía. Los resultados positivos confirman la presencia del virus, cuando hay un cambio de color en la mezcla de reacción de rosa a amarillo. Estos resultados indican que LAMP puede detectar seis moléculas en una reacción de $25 \text{ } \mu\text{L}$ siendo más específica que la RT-PCR. Por otro lado, LAMP-PCR, se ha estado utilizando en combinación con la tecnología de Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas Regularmente Interespaciadas (por sus siglas en inglés, CRISPR), para la detección específica del ToBRFV en campo (Rizzo *et al.*, 2022). La secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés), ha cobrado relevancia conforme a la aparición de nuevas tecnologías ómicas, las NGS siguen siendo dominantes en la detección de virus de plantas, debido a su alto rendimiento y bajo costo (Dumschott *et al.*, 2020). La importancia radica en la capacidad para generar enormes datos y su rápido procesamiento (Mehetre *et al.*, 2016). NGS comparte procesos que son comunes para la detección de virus de plantas, como son la extracción de ácidos nucleicos (ADN/ARN) de muestras infectadas, la posterior fragmentación del ácido nucleico para la preparación de la biblioteca. Por último, desarrollar varios cebadores sintéticos en el ADN fragmentado; para consecutivamente desarrollar diferentes químicas de secuenciación y plataformas para el análisis de ToBRFV (Luria *et al.*, 20017; Riesenfeld *et al.*, 2004). La NGS acoplada a MiSeq Illumina conocida como tecnología de segunda generación, permite la detección de ToBRFV en concentraciones bajas en la planta, incluso en infecciones asintomáticas, a través de un análisis metagenómico (Mehetre *et al.*, 2021). La técnica podría utilizarse para el monitoreo masivo de virus emergentes, limitando la diseminación y el impacto en cultivos de importancia económica.

Diseminación del virus

El primer registro del tomato brown rugose fruit virus, fue identificado por primera vez en Israel en 2014, en plantaciones de jitomate bajo malla sombra, según Luria *et al.* (2017). A pesar de ello, no fue hasta el 2015 cuando se realizó el primer reporte de su presencia en invernaderos de jitomate en Jordania donde se observaron síntomas atípicos comparados con otros virus; en hojas, mosaicos, ampulaciones y en frutos, manchas amarillas a rugosidades color marrón (Salem *et al.*, 2016). Análisis moleculares confirmaron en plantas de jitomate la presencia de un nuevo tobamovirus al que se identificó como tomato brown rugose fruit virus (Salem *et al.*, 2016; Luria *et al.*, 2017). La aparición y gravedad de los síntomas en frutos afectados por ToBRFV constituyeron un obstáculo significativo para su comercialización, y la ausencia de métodos diagnósticos adecuados junto con planes epidemiológicos retrasaron la implementación de medidas de control cuarentenario (Zhang *et al.*, 2023). Tras su descubrimiento, el virus se diseminó rápidamente a nivel mundial, principalmente a través de semillas contaminadas, ya que Israel y Jordania son destacados exportadores de semillas. Esto marcó el inicio de la expansión global del virus (Van de Vossen *et al.*, 2020). Actualmente, ToBRFV está presente en cinco continentes: América, Asia, África, Europa y Oceanía, abarcando 47 países donde se ha reportado en cultivos de *Solanum lycopersicum* y *Capsicum annum* (Figura 4). Aunque en Oceanía no se ha confirmado oficialmente su presencia, se ha indicado que semillas provenientes de Australia estaban contaminadas con ToBRFV, sugiriendo su existencia en la región (EPPO, 2023; Zhang *et al.*, 2022).

Con la importación de semillas a México, en 2017 se evidenciaron síntomas de una enfermedad que se propagaba de forma mecánica en invernaderos de jitomate. En julio de 2018, se registró el primer caso de ToBRFV en Ensenada Baja California. Las muestras analizadas mostraron 100 % de identidad con la región de 1052 pb del gen RdRP de los aislamientos de ToBRFV identificados en Israel y Jordania, según las secuencias depositadas en el GenBank (KX619418 y KT383474.1) (Camacho-Beltrán *et al.*, 2019). En septiembre del 2018 el virus fue también detectado en invernaderos de jitomate y chile en la región de Yurécuaro Michoacán, confirmado mediante RT-PCR con una identidad del 100 % a las cepas de Israel (Cambrón-Crisantos *et al.*, 2019). Así mismo, Ling *et al.* (2019) en septiembre del mismo año, reportaron la presencia de ToBRFV en un invernadero con plantas de jitomate provenientes de Baja California. Esto evidencia que el virus se diseminó rápidamente a través de las áreas de producción de jitomate y pimiento en México, encontrándose actualmente en una amplia distribución a lo largo del territorio nacional, según reportes oficiales (Figura 5).

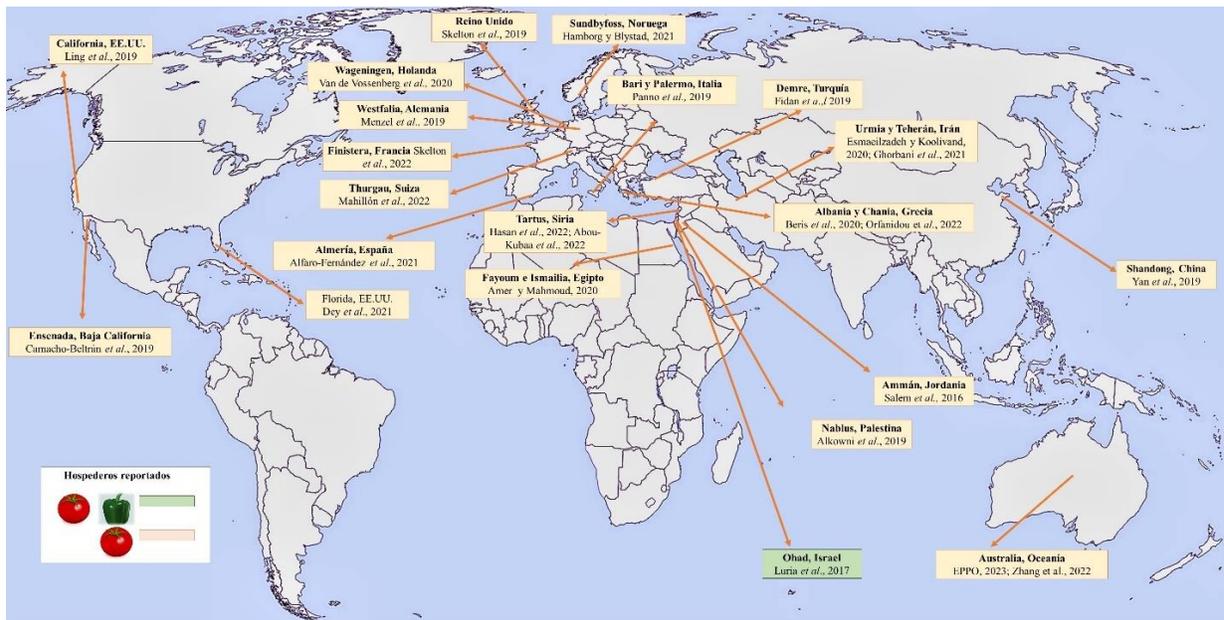


Figura 4. Registros del ToBRFV en regiones productoras del Mundo, indicando su presencia en 47 países distribuidos en los continentes de América, Asia, África, Europa y Oceanía. Los países afectados están marcados con una flecha e iluminados de acuerdo con el primer hospedante encontrado.



Figura 5. Registros del ToBRFV en la República Mexicana donde se detectó tomato brown rugose fruit virus. Los números 1, 2, 3, etc., representan la secuencia cronológica de las detecciones del virus, comenzando por el primer caso confirmado en México.

Epidemiología

La dinámica de propagación y evolución de la enfermedad causada por el ToBRFV en cultivos de jitomate se articula a través de distintas fases epidemiológicas, reflejando una complejidad inherente al comportamiento del virus. La enfermedad policíclica ToBRFV tiene una constante producción de inóculo mediada por los procesos de replicación del virus al interior de las células del hospedante (Smith y Dambrovsky, 2019), así como la rápida dispersión y posterior infección de nuevos individuos (Madden *et al.*, 2007). Las etapas de desarrollo epidemiológicas del ToBRFV se pueden describir (Figura 6) durante la infección y el progreso de la enfermedad en plantas de jitomate. Comienza con una fase inicial (Figura 6A), donde la tasa de infección es relativamente baja, lo cual se atribuye a la fase de aclimatación del patógeno a su nuevo entorno y hospedero. La fase inicial suele

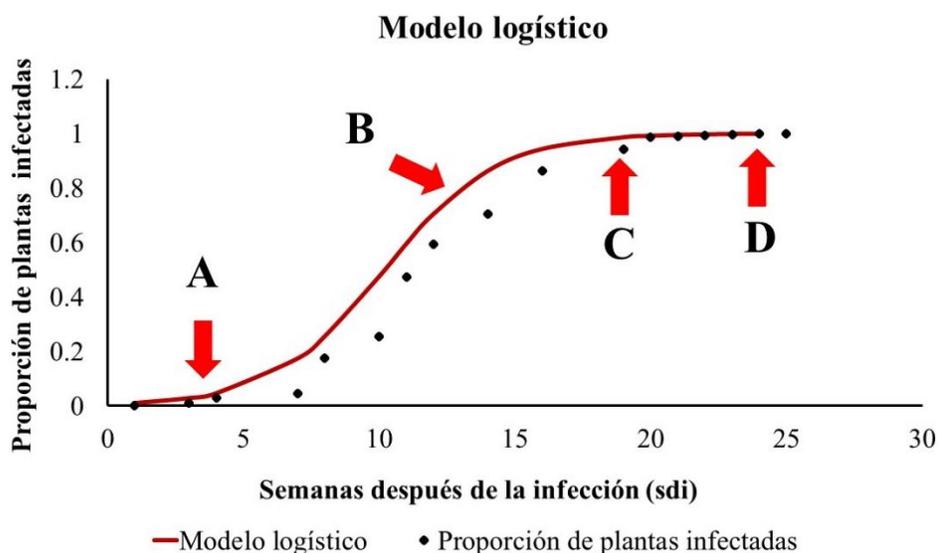


Figura 6. Evolución de una epidemia por ToBRFV en cultivo de jitomate (Diseño hipotético). A) inicio de la infección; B) fase de crecimiento o etapa exponencial; C) punto máximo de infección; D) fase de desaceleración o fase estacionaria.

desencadenarse por la germinación de semillas contaminadas; el hipocótilo activa la replicación del virus, que estaba en estado latente en los cotiledones. (Dombrovsky *et al.*, 2017b). A medida que la enfermedad progresa, se observa una fase de crecimiento exponencial (Figura 6B), durante la cual la velocidad de transmisión y la replicación viral se intensifican drásticamente, en correlación directa con la incidencia observada. Dado a la alta capacidad de transmisión mecánica del ToBRFV

y el inicio de las labores culturales en el cultivo, el virus se propaga rápidamente (Levitzky *et al.*, 2019). En este período de tiempo la tasa relativa de la enfermedad aumenta de tal modo que produce un punto máximo de transmisión (Figura 6C), impulsado por infecciones secundarias en el conjunto de plantas evaluadas. Las prácticas de manejo del cultivo, junto a la insuficiencia de medidas de desinfección, propician un escenario donde la incidencia puede alcanzar el 100 % (Jeger *et al.*, 2018; Klein *et al.*, 2023).

Al culminar esta fase, la epidemia entra a una etapa de desaceleración o fase estacionaria (Figura 6D), señalando el momento en que la enfermedad ha infectado al máximo número posible de individuos dentro de la población de plantas. A diferencia de otros miembros del género tobamovirus, el ToBRFV es capaz de causar infecciones particularmente severas (Temple *et al.*, 2023) las cuales pueden ser fatales para la planta, especialmente bajo la presencia de infecciones mixtas con otros tobamovirus. (Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2023b; Abou *et al.*, 2023). Los síntomas causados por ToBRFV en jitomate son influenciados por factores bióticos y/o abióticos, como precipitaciones, humedad y temperatura los cuales juegan un papel crucial en la incidencia y severidad del virus (Nolasco *et al.*, 2023). González-Concha *et al.* (2023) destacan que la sintomatología en plantas de jitomate cultivadas a cielo abierto difiere significativamente de aquellas cultivadas en invernadero, con altas temperaturas exacerbando tanto incidencia como la severidad del virus (Salem *et al.*, 2016). Menzel *et al.* (2019) reportaron la aparición de protuberancias de color verde oscuro en folíolos de jitomate bajo condiciones de alta temperatura, mientras que Oladokun *et al.* (2019) identificaron lesiones necróticas en los pedúnculos de folíolos, y necrosis en tallos. Panno *et al.* (2019a) observaron necrosis en el cáliz y peciolo de folíolos de jitomate. Aunque los tobamovirus, generalmente no actúan como parásitos necrotróficos con sus hospedantes, ToBRFV constituye una excepción notable a esta tendencia (Caruso *et al.*, 2022). Bajo condiciones propicias, este virus tiene la capacidad de provocar el colapso de sus hospedantes, demostrando un impacto patogénico distinto y más severo en comparación con otros miembros de su género (Dombrosky y Smith, 2017).

Estrategias de Manejo

Ante la ausencia de métodos específicos para el control y manejo del ToBRFV, se han implementado diversas estrategias culturales que reducen parcialmente la diseminación del virus en el área de trabajo. Entre estas estrategias se incluye el uso de semillas libres del virus, evitar la reutilización de sustratos (García-Estrada *et al.*, 2024), o en su defecto, se recomienda aplicar tratamientos térmicos de inactivación y desinfección para ToBRFV (Michael *et al.*, 2022; Samarah *et al.*, 2021; Ling *et al.*, 2022), remover plantas sintomáticas después del trasplante, mantener

el área de trabajo libre de malezas, que puedan actuar como reservorios del virus, y considerar la rotación de cultivos específicamente con leguminosas. Además, es crucial mantener ubicados en áreas específicas al personal de trabajo (Ehlers *et al.*, 2022b), limpieza correcta de la ropa y zapatos de los trabajadores, junto con la desinfección de herramientas antes y después de la entrada al área de producción Ehlers *et al.* (2022a). Son algunas estrategias de mitigación que podrían contribuir en un buen manejo del ToBRFV.

Aunque actualmente no existen productos químicos específicamente efectivos contra el ToBRFV en plantas hospedantes, se han investigado productos desinfectantes para reducir su incidencia y severidad en campo (Iobbi *et al.*, 2022; Nourinejhad-Zarghani *et al.*, 2023; Pablo *et al.*, 2022). Por ejemplo, se ha reportado el uso de peróxido de Hidrógeno (PH) en hidrogel de alcohol polivinílico (APV)/ polivinilpirrolidona (PVP) para liberación controlada en aplicaciones de campo, la tasa de liberación del PH hidrogel a través del contacto directo e indirecto con el suelo (fase gaseosa) ha demostrado baja fitotoxicidad y una alta eficacia contra ToBRFV en plantas de jitomate y tabaco (Eldan *et al.*, 2022; Liao *et al.*, 2013).

El uso de inductores de resistencia aplicados directamente al cultivo, para contrarrestar el daño causado por el ToBRFV es aún limitado, debido a la reciente aparición del virus. No obstante, estudios recientes han evaluado (Ortiz-Martínez y Ochoa-Martínez, 2023) el efecto de 14 elicitores y bioestimulantes sobre parámetros agronómicos de morfología, rendimiento y calidad de los frutos en plantas de jitomate infectadas con ToBRFV. Determinaron que Virablock® 3G50, Optifert®, Silicant® y Haifa Protek™ mejoraron los parámetros agronómicos evaluados, mientras que Haifa Protek™ indujo mayor sistema radicular.

ToBRFV es considerado el primer tobamovirus capaz de romper la resistencia a los genes *Tm-2*, *Tm-1* y *Tm-22* que confieren resistencia a TMV, ToMV y ToMMV en solanáceas (Hak y Spiegelman, 2021). Por ello, la selección de materiales silvestres para la aplicación de mejoramiento genético con resistencia a ToBRFV, ha brindado resultados favorables en la investigación; como lo indican Kabas *et al.* (2022), quienes evaluaron materiales de jitomate que incluyen 10 especies silvestres y 11 híbridos interespecíficos F1 derivados de *Solanum habrochaites* y *S. pennellii*, estos se probaron con aislados de ToBRFV mediante el método de prueba biológica. Al final, obtuvieron que *S. pimpinellifolium* (LA1651), *S. pennellii* (LA0716) y *S. chilense* (LA4117A, LA2747) podrían ser tolerantes a ToBRFV con un índice de severidad (ISE) menor a 19.6, 28.3, 35.0 y 35.2% respectivamente. Adicionalmente, existen reportes que indican que ToBRFV es capaz de infectar sistémicamente plantas de pimiento que portan genes L^1 o L^2 resistentes a ToMV (Eldan *et al.*, 2022), aunque en pimiento con genes L^2 y L^4 , ToBRFV produce lesiones locales como resistencia al virus (Fidan, 2021). Pelletier y Moffett (2022) indicaron que *Nicotiana tabacum* cultivar BY-2 confirió resistencia a ToBRFV mediante el

reconocimiento del fragmento viral P50 y PC, respectivamente; esto pudo haberse logrado, por la resistencia mediada por los genes N y N' al no inducir una respuesta de hipersensibilidad (RH) en *N. tabacum*.

Esto resalta la limitada disponibilidad de materiales genéticos, tanto silvestres y comerciales, que ofrecen resistencia a ToBRFV, un aspecto crucial para mitigar las pérdidas en cultivos de jitomate y pimiento (Avni *et al.*, 2021; García-Estrada *et al.*, 2022). Es importante mencionar que, aunque existen genotipos en el mercado considerados resistentes, sin embargo, no siempre contrarrestan la infección por el ToBRFV, es decir, los genotipos establecidos a temperaturas normales (20 a 28 °C) pueden tolerar al patógeno, pero a temperaturas extremas de (30 a 48 °C) pueden manifestarse como susceptibles. Por ello, es necesario tomar en cuenta la validación de la resistencia al ToBRFV, antes de su establecimiento en zonas de producción (González-Concha *et al.*, 2023; Nolasco *et al.*, 2023).

Control legal y normatividad

La problemática fitosanitaria de la presencia del ToBRFV, hizo que Estados Unidos en el 2018, a través del Departamento de Alimentos y Agricultura de California (CDFA), junto con el Departamento de Agricultura (USDA) evaluaran los riesgos que incluiría la presencia del ToBRFV, con ello establecieron restricciones a importaciones de material vegetativo, semilla de jitomate y pimiento, que permitieran la dispersión del inóculo. Pese a estas medidas, se detectó por primera vez ToBRFV en invernaderos de jitomate en el Sur de California, EE. UU (Ling *et al.*, 2019).

En México, tras la detección del virus el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVEF), ejecutó medidas que clasificaron el estatus de la plaga como “Plaga transitoria accionable y en curso de erradicación (PTAyCE)”, dado que no existían reportes por las Normas Internacionales de Medidas Fitosanitarias (NIMF) (FAO, 2023) para impedir su diseminación. Estas acciones incluyeron: diagnóstico, eliminación de plantaciones con presencia del ToBRFV y destrucción de material propagativo contaminado (semillas). Sin embargo, los resultados no fueron satisfactorios, por lo cual, en ese mismo año cambió al estatus “Plaga cuarentenaria, bajo control oficial (PCCO)”. Respecto a la aparición del virus en nuestro país se ha planteado la siguiente hipótesis. El inóculo provino de un bloque de semillas importadas de Jordania a Israel (Luria *et al.*, 2017), lo cual se distribuyó en toda la república mexicana, detectándose por primera vez en Baja California y posteriormente en Michoacán. Desde el 2019 hasta la fecha el virus fue considerado: “Plaga no cuarentenaria reglamentada (PNCR)”, por lo cual se siguieron implementando normativas para semillas y material vegetal con el objetivo de reducir su impacto en la producción mexicana. En 2019 se emitió la primera circular dirigida

a semillas, plántulas y frutos frescos de jitomates y chiles con fines de exportación y ausencia del ToBRFV (SENASICA, 2023).

Por último, la Unión Europea emitió una notificación de Decisión de Ejecución (U.E.) 2019/1615, donde establecen medidas de emergencia para evitar la introducción y propagación del ToBRFV en la U.E., motivo por el cual, en el 2021, se publicó la circular No. 040, para la exportación de semillas de jitomates y chiles con destino a la U.E. Dichos lineamientos se siguen respetando hoy en día, para la importación y exportación de semillas con destinos a EE. UU., U.E. y México.

CONCLUSIONES

El desconocimiento del ToBRFV posterior a la detección, produjo la dispersión rápida por todo el mundo, ya que es un patógeno que puede transmitirse en semilla y restos vegetales, lo cual le confiere mayor diseminación. Actualmente se reportan cinco clados de acuerdo con la diversidad genética existente, ToBRFV infecta a 16 familias de malezas y cultivos hospedantes distribuidos en 47 países; siendo *Solanum lycopersicum* el de mayor importancia económica. La resistencia genética es una alternativa que impactaría en el desarrollo de genotipos resistentes, sin embargo, en la actualidad son limitados los estudios al respecto. El estatus actual de ToBRFV en México y su presencia en zonas productoras de jitomate, revela que el problema fundamental no solo radica en la semilla contaminada, sino en las medidas fitosanitarias implementadas para la detección de enfermedades emergentes. En esta revisión se enfatiza que el análisis integral de ToBRFV, desde su diversidad genética hasta estrategias de manejo específicas. La falta de medidas correctivas para enfermedades virales podría llevar a la repetición de escenarios similares, resaltando la importancia de realizar investigaciones adicionales enfocadas en enfermedades virales emergentes, como el ToBRFV.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo 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 (No. 1223150).

LITERATURA CITADA

- Abou-Kubaa R, Choueiri E, Heinoun K, Cillo F and Saponari M. 2022. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* infecting sweet pepper in Syria and Lebanon. *Journal of Plant Pathology* 104(1):425. doi: <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00987-y>
- Abou-Kubaa R, Amoia SS, Altamura G, Minafra A, Chiumenti M and Cillo F. 2023. Nanopore Technology Applied to Targeted Detection of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* Allows Sequencing of Related Viruses and the Diagnosis of Mixed Infections. *Plants* 12(5): 886-999. <https://doi.org/10.3390/plants12050999>
- Abrahamian P, Cai W, Nunziata SO, Ling KS, Jaiswal N, Mavrodieva VA, Rivera Y and Nakhla MK. 2022. Comparative Analysis of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus Isolates* Shows Limited Genetic Diversity. *Viruses* 14(12): 2816. <https://doi.org/10.3390/v14122816>
- Adams MJ, Adkins S, Bragard C, Gilmer D, Li D, MacFarlane SA, Wong SM, Melcher U, Ratti C, Ryu, KH and Consortium IR. 2017. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Virgaviridae*. *Journal of General Virology* 98(8): 1999-2000. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000884>
- Aiewsakun P, and Katourakis A. 2016. Time-dependent rate phenomenon in viruses. *Journal of virology* 90(16):7184-7195. <https://doi.org/10.1128/jvi.00593-16>
- Alfaro-Fernández A, Castillo P, Sanahuja E, Rodríguez-Salido MC and Font MI. 2021. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato in Spain. *Plant Disease* 105(2): 515. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1251-PDN>
- Alkowni R, Alabdallah O and Fadda Z. 2019. Molecular identification of *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato in Palestine. *Journal Plant Pathology* 101: 719–723. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00240-7>
- Alon DM, Hak H, Bornstein M, Pines G and 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>
- Amer MA and Mahmoud SY. 2020. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* on tomato in Egypt. *New Dis. Reports* 41 (24): 2044-0588. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.041.024>
- Avni B, Gelbart D, Sufirin-Ringwald T, Zinger A, Chen L, Machbash Z, Bekelman I, Segoli M, Dombrovsky A, Kamenetsky R, Levin I and Lapidot M. 2021. Tomato genetic resistance to tobamoviruses is compromised. *SHS Acta Horticulturae* 1316: 89-98. [10.17660/ActaHortic.2021.1316.13](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1316.13)
- Beris D, Malandraki I, Kektsidou O, Theologidis I, Vassilakos N and Varveri C. 2020. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* infecting tomato in Greece. *Plant Disease* 104(7): 2035. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0212-PDN>
- Bernabé-Orts JM, Hernando Y and Aranda MA. 2022. Toward a CRISPR-based point-of-care test for *Tomato brown rugose fruit virus* detection. *PhytoFrontiers™* 2(2): 92-100. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-08-21-0053-TA>
- Bustin AS, Benes V, Garson JA, Hellems J, Huggett J, Kubista M, Mueller R, Nolan and Pfaffl MW. 2009. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Q uantitative Real-Time PCR E xperiments. *Clinical Chemistry* 55(4): 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
- Byzova NA, Safenkova IV and Chirkov SN. 2009. Development of immunochromatographic test systems for express detection of plant viruses. *Applied biochemistry and microbiology* 45: 204-209. <https://doi.org/10.1134/S000368380902015X>
- Camacho-Beltrán E, Pérez-Villarreal A, Pérez-Leyva, NE, Rodríguez-Negrete, EA, Cenicerros-Ojeda EA, and Méndez-Lozano, J. 2019. Occurrence of *Tomato brown rugose fruit virus* infecting tomato crops in Mexico. *Plant Disease* 103(6): 10.1094/PDIS-11-18-1974-PDN
- Cambrón-Crisantos JM, Rodríguez-Mendoza J, Valencia-Luna J B, Alcasio-Rangel S, García-Ávila, CJ, López-Buenfil, JA, and Ochoa-Martínez, DL. 2019. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in Michoacan, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37(1): 185-192. [10.18781/R.MEX.FIT.1810-5](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1810-5)
- Caruso AG, Bertacca S, Parrella G, Rizzo R, Davino S and 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>
- Çelik A, Coşkan S, Morca AF, Santosa AI, and Koolivand D. 2022. Insight into Population Structure and Evolutionary Analysis of the Emerging *Tomato Brown Rugose Fruit Virus*. *Plants* 11(23): 3279. <https://doi.org/10.3390/plants11233279>

- Chanda B, Gilliard A, Jaiswal N and Ling KS. 2021a. 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: 3643–3652. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1070-RE>
- Chanda B, Rivera Y, Nunziata SO, Galvez ME, Gilliard A and Ling KS. 2020. Complete genome sequence of a *Tomato brown rugose fruit virus* isolated in the United States. *Microbiology Resource Announcements* 9(29): e00630-20. <https://doi.org/10.1128/MRA.00630-20>
- Chanda B, Shamimuzzaman M, Gilliard A and Ling KS. 2021b. 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>
- Cohen J, Zeidan M, Rosner A and Gera A. (2000) Biological and Molecular Characterization of a New *Carlavirus* Isolated from an *Aconitum* sp. *Phytopathology* 90(4): 340–4. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.4.340>
- Dey KK, Velez-Climent M, Soria P, Batuman O, Mavrodiya V, Wei G, Zhou J, Adkins S and McVay J. 2021. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* infecting tomato in Florida, USA. *New Disease Reports* 44: e12028. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12028>
- Dombrovsky A, Tran-Nguyen LTT and Jones R. (2017a). *Cucumber green mottle mosaic virus*: rapidly increasing global distribution, etiology, epidemiology, and management. *Annual Reviews Phytopathology* 55: 231–256. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035349>
- Dombrovsky A and Smith E. 2017b. Seed Transmission of Tobamoviruses: Aspects of Global Disease Distribution. *Adv. Seed Biol* 12:233-260. [1210.5772/intechopen.70244](https://doi.org/10.5772/intechopen.70244)
- Dumschott K, Schmidt MH, Chawla HS, Snowdon R and Usadel B. 2020. Oxford Nanopore Sequencing: New opportunities for plant genomics? *J. Exp. Bot.* 71(18): 5313–5322. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa263>
- Eads A, Groth-Helms, D, Davenport B, Cha X, Li R, Walsh C and 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, Nourinejad ZS, Kroschewski B, Büttner C and Bandte M. 2022a. Cleaning of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) from Contaminated Clothing of Greenhouse Employees. *Horticulturae* 8(751). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080751>
- Ehlers J, Nourinejad ZS, Kroschewski B, Büttner C and Bandte M. 2022b. Decontamination of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus*-Contaminated Shoe Soles under Practical Conditions. *Horticulturae* 2(8): 1210. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121210>
- Eichmeier A, Hejlova M, Orsagova H, Frejlichova L, Hakalova E, Tomankova K, Linhartova S, Kulich P, Cermak V and Cechova J. 2023. Characterization of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* (ToBRFV) Detected in Czech Republic. *Diversity* 15: 301. <https://doi.org/10.3390/d15020301>
- Eldan O, Ofir A, Luria N, Klap C, Lachman O, Bakelman E, Belausov E, Smith E and Dombrovsky A. 2022. Pepper Plants Harboring L Resistance Alleles Showed Tolerance toward Manifestations of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* Disease. *Plants* 11: 2378. <https://doi.org/10.3390/plants11182378>
- EPPO. (2023) *Tomato brown rugose fruit virus*. Available at: EPPO Global database Distribution World: <https://gd.eppo.int/taxon/TOBRFV/distribution> [Accessed 14th April 2023].
- Esmailzadeh F and Koolivand D. 2022. Occurrence of *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato in Iran. *Journal of Plant Pathology* 104(1): 457-457. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-01009-7>
- FAO. (2023). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF). Link: <https://www.ippc.int/es/core-activities/standards-setting/ispm/> (consulta, junio 2023).
- Fidan H, Sarikaya P and Calis O. 2019. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* on tomato in Turkey. *New Disease Reports* 39: 18. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2019.039.018>.
- Fidan H, Sarikaya P, Yildiz K, Topkaya B, Erkis G and 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)
- Fillmer K, Adkins S, Pongam, and Elia T. 2015. Complete genome sequence of a *Tomato mottle mosaic virus* isolate from the United States. *Genome Announcements* 3(2): e00167-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00167-15>

- García-Estrada RS, Díaz-Lara A, Aguilar-Molina VH and Tovar-Pedraza, JM. 2022. Viruses of Economic Impact on Tomato Crops in Mexico: From Diagnosis to Management—A Review. *Viruses* 14: 1251. <https://doi.org/10.3390/v14061251>
- Ghorbani A, Rostami M, Seifi S and Izadpanah K. 2021. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* in greenhouse tomato in Iran. *New Dis Rep* 44: e12040. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12040>
- Gibbs A. (1999). Evolution and Origins of Tobamoviruses, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological* 354: 593–602. <https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0411>
- González-Concha LF, Ramírez-Gil JG, Mora-Romero GA, García-Estrada RS, Carrillo-Fasio JA and Tovar-Pedraza JM. 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>
- González-Concha LF, Ramírez-Gil JG, García-Estrada RS, Rebollar-Alviter Á and Tovar-Pedraza JM. 2021. Spatiotemporal Analyses of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* in Commercial Tomato Greenhouses. *Agronomy* 11(7): 1268. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071268>
- González-Garza, R. 2017. Evolución de técnicas de diagnóstico de virus fitopatógenos. *Revista mexicana de fitopatología* 35(3): 591-610. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-1>
- Guo Y, Wu W, Zhang X, Ding M, Yu J, Zhang J, Jia M and Tian Y. 2022. Triplex Lateral Flow Immunoassay for Rapid Diagnosis of *Tobacco mosaic virus*, *Tobacco vein banding mosaic virus* and *Potato virus Y*. *Plant Disease* 106 (12): 3033-3039. <https://doi.org/10.1094/pdis-08-21-1756-re>
- Hak, H. and Spiegelman Z. 2021 The *Tomato brown rugose fruit virus* movement protein overcomes Tm-22 resistance in tomato while attenuating viral transport. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 34: 1024–1032. <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-21-0023-R>
- Hasan ZM, Salem NM, Ismail ID, Akel EH and Ahmad AY. 2022. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* on greenhouse tomato in Syria. *Plant Disease* 106(772): <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-21-1356-PDN>
- Federación Internacional de Semillas. 2020. Detection of infectious *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in tomato and pepper seed. https://www.worldseed.org/wp-content/uploads/2020/03/ TomatoToBRFV_2020.03.pdf [consulta, septiembre 2022].
- Iobbi V, Lanteri AP, Minuto A, Santoro V, Ferrea G, Fossa P, Bisio A. 2022. Autoxidation Products of the Methanolic Extract of the Leaves of *Combretum micranthum* Exert Antiviral Activity against *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* (ToBRFV). *Molecules* 27: 760. <https://doi.org/10.3390/molecules27030760>
- Ishikawa MY, Matsuyama M, Kouzai Y, Kano A and Ishibashi K. 2022. *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* Resistance Generated by Quadruple Knockout of Homologs of TOBAMOVIRUS MULTIPLICATION1 in Tomato. *Plant Physiology* 189(2): <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac103>
- Ivanovsky D. 1892. ‘Ueber die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze’, *St Petersburg. Acad. Imp. Sci. Bull* 35: 67–70.
- Jamous RM, Zaitoun SYA, Mallah OB and Ali-Shtayeh MS. 2022. Biological and Molecular Characterization of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) on Tomato Plants in the State of Palestine. *Research in Plant Disease* 28(2): 99. <https://doi.org/10.5423/RPD.2022.28.2.98>
- Jeger MJ, Madden LV and Bosch FVD. 2018. Plant virus epidemiology: Applications and prospects for mathematical modeling and analysis to improve understanding and disease control. *Plant Disease* 102: 837-854. [10.1094/PDIS-04-17-0612-FE.4](https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0612-FE.4)
- Jewehan A, Kiemo FW and Salem N. (2022a). Isolation and molecular characterization of a *Tomato brown rugose fruit virus* mutant breaking the tobamovirus resistance found in wild *Solanum* species. *Arch Virol* 167: 1559–1563. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05438-2>
- Jewehan, A, Salem N, Tóth Z, Salamon P and Szabó Z. 2022b. 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: 1-7. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00535-x>
- Kabas A, Fidan H, Kucukaydin H and Atan HN. (2022). Screening of wild tomato species and interspecific hybrids for re-sistance/ tolerance to *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV). *Chilean Journal of Agricultural Research* 82: 189–196. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392022000100189>.
- Khamphirapaeng P, Cheewangkoon R, McGovern R., Wong SM and To-Anun, C. 2017. Detection of *Tobacco mosaic virus* in peunia and tobacco by light microscopy using a simplified inclusion body staining technique. *IJAT* 13(2): 163-168. <http://www.ijat-aatsea.com/>.

- Kitajima EW. 2004. Electron microscopy in plant virology: Past, present and future. *Microscopy and Microanalysis* 10: 212–213. doi: <https://doi.org/10.1017/S1431927604881467>
- Klap C, Luria N, Smith E, Hadad L, Bakelman E, Sela N, Belausov E, Lachman O, Leibman D and Dombrovsky A. 2020. *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* Contributes to Enhanced *Pepino Mosaic Virus* Titers in Tomato Plants. *Viruses* 8: 879. <https://doi.org/10.3390/v12080879>
- Klein E, Smith E, Klap C, Bakelman E, Ophir A, Sela A, Poverenov E, Rein D, Cohen Y, Eliahu, D, Shahal S, Mechrez G, Mani KA, Guruprasad Reddy P, Domb AJ, Pass, N and Dombrovsky A. 2023. A Novel Platform for Root Protection Applies New Root-Coating Technologies to Mitigate Soil-Borne *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* Disease. *Viruses* 15: 728. <https://doi.org/10.3390/v15030728>
- Lartey RT, Voss TC, Melcher U. 1996. Tobamovirus Evolution: Gene Overlaps, Recombination, and Taxonomic Implications. *Molecular Biology and Evolution* 13: 1327–38. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a0255798>
- Levitzky N, Smith E, Lachman O, Luria N, Mizrahi Y, Bakelman H, Sela N, Laskar O, Milrot, E and 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>
- Li R, Gao S, Fei Z and Ling KS. 2013. Complete genome sequence of a new *Tobamovirus* naturally infecting tomatoes in Mexico. *Genome announcements* 1(5): e00794-13. <https://doi.org/10.1128/genomea.00794-13>
- Liao YWK, Sun ZH, Zhou YH, Shi K and Li X. 2013. The Role of Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide in the Induction of Plant-Encoded RNA-Dependent RNA Polymerase 1 in the Basal Defense against *Tobacco Mosaic Virus*. *PLOS ONE* 8(9): e76090. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076090>
- Ling KS, Gilliard AC and Zia B. 2022. Disinfectants Useful to Manage the Emerging *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* in Greenhouse Tomato Production. *Horticulturae* 8(12): 1193. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121193>
- Ling, K. S, Tian T, Gurung S, Salati R and Gilliard A. 2019. First Report of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* Infecting Greenhouse Tomato in the United States. *Plant diseases* 103(6): 1439. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-1959-PDN>
- Luigi M, Mangli A, Tiberini A, Bertin S, Ferretti L, Taglienti A, Faggioli F and Tomassoli L. 2022. Inter-Laboratory Comparison of RT-PCR-Based Methods for the Detection of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* on Tomato. *Pathogens* 11: 207. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020207>
- Luria N, Smith E, Reingold V, Bekelman I, Lapidot M and Levin I. 2017. A new Israeli *Tobamovirus* isolate infects tomato plants harboring Tm-22 resistance genes. *PLoS One* 12: e0170429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170429>
- Magaña-Álvarez AA, Pérez-Brito D, Vargas-Hernández, BY, Ramírez-Pool, JA, Núñez-Muñoz, LA, Salgado-Ortiz H and Xocostle-Cázares B. 2021. Detection of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in solanaceous plants in Mexico. *Journal of Plant Diseases and Protection* 128: 1627– 1635. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00496-1>
- Mahillon M, Kellenberger I, Dubuis N, Brodard J, Bunter M, Weibel J, Sandrini F and Schumpp O. 2022. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato in Switzerland. *New Disease Reports* 45: e12065. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12065>
- Matzrafi M, Abu-Nassar J, Klap C, Smith E and Dombrovsky A. 2023. *Solanum elaeagnifolium* and *S. rostratum* as potential hosts of the *Tomato brown rugose fruit virus*. *Plos one* 18(3): e0282441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282441>
- Mehetre GT, Paranjpe AS, Dastager SG and Dharne MS. 2016. Complete metagenome sequencing based bacterial diversity and functional insights from basaltic hot spring of Unkeshwar, Maharashtra, India. *Genomics data* 7:140-143. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2015.12.031>
- Mehetre GT, Leo VV, Singh G, Sorokan A, Maksimov I, Yadav MK, Upadhyaya K, Hashem A, Alsaleh AN and Dawoud TM. 2021. Current Developments and Challenges in Plant Viral Diagnostics: A Systematic Review. *Viruses* 13: 412. <https://doi.org/10.3390/v13030412>
- Menzel W and 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>
- Menzel W, Knierim D, Winter S, Hamacher J and Heupel M, (2019). First report of *Tomato brown rugose fruit virus* infecting tomato in Germany. *New Disease Reports* 39(1): <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2019.039.001>

- Michael V, Hagit H, Tzahi A and Ziv S. 2022. The Impact of Tobamovirus Infection on Root Development Involves Induction of Auxin Response Factor 10a in Tomato. *Plant and Cell Physiology* 63(12): 980–1993. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcab179>
- Nolasco-García LL, Marín-León, JL., Mireles-Arriaga AI, Ruiz-Nieto J. E and Hernández-Ruiz, J. 2022. Geographic areas susceptible to *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in Guanajuato, Mexico. *Bioagro* 35(1): 13-20. <https://doi.org/10.51372/bioagro351.2>
- Nourinejhad-Zarghani S, Ehlers J, Monavari M, Von-Bargen S, Hamacher J, Büttner C, Bandte M. 2023. Applicability of Different Methods for Quantifying Virucidal Efficacy Using MENNO Florades and *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* as an Example. *Plants* 12: 894. <https://doi.org/10.3390/plants12040894>
- Oladokun JO, Halabi MH, Barua P and Nath PD. 2019. *Tomato brown rugose fruit virus* disease: Current distribution, knowledge and future prospects. *Plant Pathology* 68(9): 1579–1586. <https://doi.org/10.1111/ppa.13096>
- Ortiz-Martínez LE, Ochoa-Martínez DL, Rojas-Martínez RI, Aranda-Ocampo S and Cruz MAG. 2021. 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>
- Ortiz-Martínez LE, Ochoa-Martínez DL. 2023. Elicitors and biostimulants in the production of tomato infected with *Tomato brown rugose fruit virus*. *Journal. Plant Disease Protection* 130: 351–360. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00693-6>
- Pablo VM, Daniel A and Salas-Aranda IJ. 2022. A ToBRFV similar to a European isolate in a Mexican greenhouse, its presence in seeds and its inactivation for virus integrated management. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1697399/v>
- Panno S, Caruso AG and Davino S. 2019a. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* on tomato crops in Italy. *Plant Disease* 103(6): 1443-1443. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2254-PDN>
- Panno S, Ruiz-Ruiz S, Caruso AG, Alfaro-Fernandez A, San Ambrosio MIF and Davino S. 2019b. 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>
- Pelletier A and Moffett P. 2022. N and N'-mediated recognition confers resistance to tomato brown rugose fruit virus. *microPublication biology*. <https://doi.org/10.17912/micropub.biology.000660>
- Pepperkok R and Ellenberg J. 2006. High-throughput fluorescence microscopy for systems biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7: 690–696. <https://doi.org/10.1038/nrm1979>
- Ragasová L, Hakalová E, Ferby V, Čechová J, Klapcová G and Pokluda R. 2022. Effect of Plant Growth Promoting Microorganisms on Pepper Plants Infected with *Tomato Brown Rugose Fruit Virus*. *Diversity* 14: 635. <https://doi.org/10.3390/d14080635>
- Riesenfeld CS, Schloss PD and Handelsman J. 2004. Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annual Review of Genetics* 38: 525-552. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.38.072902.091216>
- Rizzo D, Da Lio, D, Panattoni A, Salemi C, Cappellini G, Bartolini L and Parrella G. 2021. Rapid and sensitive detection of *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato and pepper seeds by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays (real time and visual) and comparison with RT-PCR end-point and RT-qPCR methods. *Frontiers in Microbiology* 12: 640932. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.640932>
- Rodríguez-Mendoza J, García-Ávila CJ, López-Buenfil JA, Araujo-Ruiz K, Quezada-Salinas A, Cambrón-Crisantos JM and Ochoa-Martínez DL. 2019. Identificación de *Tomato brown rugose fruit virus* por RT-PCR de una región codificante de la replicasa (RdRP). *Revista mexicana de fitopatología*, 37(2): 345-356. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1902-6>
- Roistacher CN. 1991. Graft-transmissible Diseases of Citrus. Handbook for detection and diagnosis. IOCV, Riverside and FAO, Rome. 286. https://archive.org/details/bub_gb_9zY1uFGchAgC
- Sabra A, Amer MA, Hussain K, Zakri A, AlShahwan IM and Al-Saleh M.A. 2023. Occurrence and Distribution of Tomato Brown Rugose Fruit Virus Infecting Tomato Crop in Saudi Arabia. *Plants* 11(22): 3157. <https://doi.org/10.3390/plants11223157>
- Salem NM, Jewehan A, Aranda MA, and Fox A. 2023. *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* Pandemic. *Annual Review of Phytopathology* 61: 137-164. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-021622-120703>
- Salem N, Mansour A, Ciuffo M, Falk BW and 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 NM, Abumuslem M, Turina M, Samarah N, Sulaiman A, Abu-Irmaileh B and Ata Y. 2022. Localization and mechanical transmission of *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato seeds. *Plant Disease* 106(1): 275-281. <https://doi.org/10.3390/plants11172287>

- Salem, NM, Cao M J, Odeh S, Turina M and Tahzima R. 2020. First report of *Tobacco mild green mosaic virus* and *Tomato brown rugose fruit virus* infecting *Capsicum annuum* in Jordan. *Plant Disease* 104(2): 601-601. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-06-19-1189-PDN#>
- Samarah N, Sulaiman A and Salem NM. 2021. Disinfection treatments eliminated *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato seeds. *European Journal Plant Pathology* 159: 153–162. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02151-1>
- Sánchez-Sánchez M. 2023. The *Tomato brown rugose fruit virus* is restricted to specific areas in Sonora, México a study of 2021-2022 season. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 26(3). <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.4674>
- Sarkes A, Fu H, Feindel D, Harding M and Feng J. 2020. Detection of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in solanaceous plants in Mexico. *PLoS One* 15(6): e0230403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230403>
- Sarkes A, Fu H, Feindel D, Harding M and 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>
- SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2023. Módulo de consulta de requisitos para la importación de mercancías fitosanitarias. <https://sistemasssl.senasica.gob.mx/mcrfi/ConsultaCatalogos.xhtml> (consulta, noviembre 2023).
- Shen L, Wang F, Liu Y, Qian Y, Yang J and Sun H. 2013. Suppression of *Tobacco mosaic virus* by *Bacillus amyloliquefaciens* strain Ba33. *Journal of Phytopathology* 161(4): 293-294. <https://doi.org/10.1111/jph.12058>
- SINAVEF-SENASICA. 2020. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica-Servicio Nacional de Sanidad e Inocuidad en Calidad Agroalimentaria. Panorama Nacional del Virus del fruto rugoso del tomate ToBRFV. 9p.
- Skelton A, Buxton-Kirk A, Ward R, Harju V, Frew L, Fowkes A and Fox A. 2019. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato in the United Kingdom. *Nuevo Dis. Rep.* 40(12): 2044-0588. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2019.040.012>
- Skelton A, Gentit P, Porcher L, Visage M, Fowkes A, Adams IP and Fox A. 2022. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* in tomato in France. *New Disease Reports* 45(1). <https://doi.org/10.1002/ndr2.12061>
- Skotnicki A, Gibbs A and Wrigley NG. 1976. Further studies on *Chara corallina virus*. *Virology* 75(2): 457-468. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(76\)90043-X](https://doi.org/10.1016/0042-6822(76)90043-X)
- Smith E and Dombrovsky A. 2019. Aspects in *Tobamovirus* management in intensive agriculture. In *Plant diseases-current threats and management trends*. IntechOpen. Plant diseases 9. 133.
- Tatineni S and Hein GL. 2023. Plant Viruses of Agricultural Importance: Current and Future Perspectives of Virus Disease Management Strategies. *Phytopathology*® 113(2): 117-141. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-22-0167-RVW>
- Temple C, Blouin AG, Tindale SJ, Steyer S, Marechal K and Massart S. 2023. High Throughput Sequencing technologies complemented by growers perception highlight the impact of tomato virome in diversified vegetable farms. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 7:1139090. <https://doi.org/10.1101/2023.01.12.523758>
- Van de Vossenbergh, BT, Visser M, Bruinsma M, Koenraadt HMS and 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>.
- Vargas-Hernández BY, Ramírez-Pool JA, Núñez-Muñoz LA, Calderón-Pérez B, De La Torre-Almaráz, R, Hinojosa-Moya J, Xocostle-Cázares B and Ruiz-Medrano R. 2022. Development of a droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) assay for the detection of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in tomato and pepper seeds. *Journal of virological methods* 302: 114466. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2022.114466>
- Vargas-Mejía P, Rodríguez-Gómez G and Salas-Aranda DA. 2023. Identification and management of *Tomato brown rugose fruit virus* in greenhouses in Mexico. *Arch Virology* 168: 135. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05757-y>
- Vásquez-Gutiérrez U, Delgado-Ortiz JC, Frías-Treviño GA, Aguirre-Urbe LA, Flores-Olivas A. 2023b. 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 GA, Delgado-Ortiz JC, Aguirre-Urbe LA and Flores-Olivas A. 2023a. 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 (IJHAF)* 7(2): 1-6. <https://dx.doi.org/10.22161/ijhaf.7.2>

- Vásquez-Gutiérrez U, López López H, Frías Treviño GA, Delgado Ortiz JC, Flores Olivas A, Aguirre Uribe LA and 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>
- Wilstermann A and Ziebell H. 2019. *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV). JKI Data Sheets – Plant Diseases and Diagnosis. 1. 1-4.10.5073/20190607-160917
- Wylie SJ, Li H and Jones MG. 2014. *Yellow Tailflower Mild Mottle Virus*: A New *Tobamovirus* Described From *Anthocercis littorea* (*Solanaceae*) in Western Australia. *Archives of Virology* 159: 791–5. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1891-4>
- Yan ZY, Ma HY, Han SL, Geng C, Tian YP and Li XD. 2019. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* infecting tomato in China. DOI: Plant Disease 103(11): 2973-2973. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-1045-PDN>
- Yan ZY, Ma HY, Wang L, Tettey C, Zhao MS and Geng C. 2021a. 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: 1347– 1357. <https://doi.org/10.1111/mpp.13115>.
- Yan ZY, Zhao MS, Liu LZ, Yang GL, Chao GENG, Yanping TIAN and Li XD. 2021b. 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-Macorra EJ, Aviña-Padilla K, Rosemarie HW and Ochoa-Martínez DL. 2023. Comparison of molecular protocols to detect *Tomato brown rugose fruit virus* in solanaceae hosts. *Mexican Journal of Phytopathology* 41(4): 2. DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2023-5>
- Zamora-Islas E, Santiago-Aspiazú GC and Mundo-Hernández JJ. 2021. Aproximaciones teórico-metodológicas para el análisis territorial y el desarrollo regional sostenible. Colección: Recuperación transformadora de los territorios con equidad y sostenibilidad. Vol. 1. ISBN. UNAM 978-607-30-5332-7, AMECIDER 978-607-8632-18-3. Caracterización de las prácticas del cultivo de tomate rojo bajo invernadero en Aquixtla, Puebla. Recuperación transformadora de los territorios con equidad y sostenibilidad” UNAM- AMECIDER, México. 20p.
- Zhang G, Zhang Z, Wan Q, Zhou H, Jiao M, Zheng H and Wu J. 2023. Selection and Validation of Reference Genes for RT-qPCR Analysis of Gene Expression in *Nicotiana benthamiana* upon Single Infections by 11 Positive-Sense Single-Stranded RNA Viruses from Four Genera. *Plants* 12(4): 857. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01614>
- Zhang S, Griffiths JS, Marchand G, Bernards MA and 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: 1262–1277. <https://doi.org/10.1111/mpp.13229>