

## Short Note [Nota Corta]

OCURRENCIA DE TOBRFV EN INVERNADEROS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN OAXACA, MÉXICO †[OCCURRENCE OF TOBRFV IN TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) GREENHOUSES IN OAXACA, MEXICO]

Ubilfrido Vásquez-Gutiérrez<sup>1</sup>, Gustavo Alberto Frías-Treviño<sup>1\*</sup>,  
Juan Carlos Delgado-Ortiz<sup>1,2</sup>, Luis Alberto Aguirre-Uribe<sup>1</sup>  
and Alberto Flores-Olivas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología Agrícola, Postgrado en Ciencias en Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, #1923, Calzada Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah., CP 25315, México. E-mail: [vagu.99@hotmail.com](mailto:vagu.99@hotmail.com), [serveagfrias@ghotmail.com](mailto:serveagfrias@ghotmail.com), [luisaguirre49@hotmail.com](mailto:luisaguirre49@hotmail.com), [aflooli50@gmail.com](mailto:aflooli50@gmail.com).

<sup>2</sup>Investigador por México CONAHCYT-UAAAN, Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro #1923, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, CP 25315, México. E-mail: [moe\\_788@hotmail.com](mailto:moe_788@hotmail.com).

\*Corresponding author

## SUMMARY

**Background.** Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) is an emerging pathogen distributed in different regions of Mexico. **Objective.** To test the presence of ToBRFV in tomato plants of the Mesías variety (HM-Clause) in five greenhouses located in San Pablo Guilá, Oaxaca. **Methodology.** Using ImmunoStrip (Agdia, Elkhart, USA) a serological assay was performed on the five samples collected from the greenhouse. Using a modified version of Koch's postulates, tomato plants var.192-536 F1 were mechanically inoculated. A biological indexing assay was also performed, where 30-day-old plants of *Chenopodium amaranticolor* and *Nicotiana longiflora* were inoculated from infective sap prepared from each sample collected. The sandwich ELISA (DAS-ELISA) was performed 30 days post inoculation (dpi). Subsequently, a fragment of the 475 bp region was amplified by reverse transcription (RT) and polymerase chain reaction (PCR). **Results.** The ImmunoStrip assay was positive for ToBRFV, inoculation of plants 30 dpi, expressed symptoms of blistering, yellowing, mosaic and leaf deformation. *N. longiflora* plants showed local necrotic lesions, while *Ch. amaranticolor* expressed the formation of local chlorotic lesions. Likewise, the samples run by DAS-ELISA yielded a positive diagnosis for ToBRFV. The RT-PCR products obtained amplified a 475 bp fragment confirming the presence of ToBRFV in the five samples studied. **Implications.** There are limited reports confirming the presence of ToBRFV in Mexican states. **Conclusions.** To our knowledge, this is the first occurrence of ToBRFV infecting tomato plants in greenhouses in Oaxaca, Mexico.

**Key words:** serological assay; biological indexing; occurrence; tobamovirus.

## RESUMEN

**Antecedentes.** Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) es un patógeno emergente que se encuentra distribuido en diferentes regiones productoras de México. **Objetivo.** Comprobar la presencia de ToBRFV en plantas de tomate variedad Mesías (HM-Clause) en cinco invernaderos ubicados en San Pablo Guilá, Oaxaca. **Metodología.** Utilizando ImmunoStrip (Agdia, Elkhart, USA) se realizó un ensayo serológico a las cinco muestras colectadas de invernadero. Aplicando una versión modificada de los postulados de Koch, se inocularon mecánicamente plantas de tomate var.192-536 F1. También se realizó un ensayo de indexación biológica, donde se inocularon plantas de 30 días de *Chenopodium amaranticolor* y *Nicotiana longiflora* a partir de sabia infectiva preparada de cada muestra colectada. El ensayo ELISA tipo sándwich (DAS-ELISA) se realizó a los 30 días posteriores a la inoculación (dpi). Posteriormente se amplificó por transcripción inversa (RT) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) un fragmento de la región de 475 pb. **Resultados.** El ensayo por ImmunoStrip dio positivo a ToBRFV, la inoculación de plantas 30 dpi, expresaron síntomas

† Submitted May 22, 2024 – Accepted September 2, 2024. <http://doi.org/10.56369/tsaes.5651>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID: U. Vásquez-Gutiérrez: <http://orcid.org/0000-0001-8281-5075> G.A. Frías-Treviño: <http://orcid.org/0000-0001-8281-5075> J.C. Delgado-Ortiz: <http://orcid.org/0000-0003-4899-9995> L.A. Aguirre-Uribe A. Flores-Olivas: <http://orcid.org/0000-0001-8462-1012>

de ampulaciones, amarillamientos, mosaicos y deformaciones en hojas. Las plantas de *N. longiflora* presentaron lesiones locales necróticas, mientras que *Ch. amaranticolor* expresó la formación de lesiones locales cloróticas. Así mismo las muestras corridas por DAS-ELISA arrojaron un diagnóstico positivo a ToBRFV. Los productos de RT-PCR obtenidos amplificaron un fragmento de 475 pb confirmando la presencia de ToBRFV en las cinco muestras estudiadas. **Implicaciones.** Existen limitados reportes donde confirmen la presencia del ToBRFV en estados de México. **Conclusiones.** Hasta donde sabemos es la primera ocurrencia de ToBRFV infectando plantas de tomate en invernaderos de Oaxaca, México.

**Palabras clave:** ensayo serológico; indexación biológica; ocurrencia; tobamovirus.

## INTRODUCCIÓN

La producción de tomate en México representa una de las prioridades para los consumidores de todo el mundo, tan sólo en 2023, se estimó un volumen en la producción de 3,401,300 toneladas. Oaxaca es considerado uno de los estados emergentes productores de tomate, debido al número de empleos que genera la producción de este cultivo para la manutención de familias urbanas, reduciendo con esto el índice de emigración a Estados Unidos (Jiménez-Velasco *et al.*, 2017; Mendoza-Ramírez *et al.*, 2022). Oaxaca mantiene una producción de 36 300 Ton (SIAP, 2022), distribuida en la región Mixteca (45 %), Valles Centrales (31 %), en la Sierra Sur (14 %), en la Sierra Norte (12 %) y un 10 % en las regiones del Istmo, Costa, Papaloapan y Cañada (SIAP, 2019). Sin embargo, la producción de tomate en San Pablo Guilá, se ha visto afectada por la presencia del “tomato brown rugose fruit virus” (ToBRFV), tobamovirus de importancia cuarentenaria en diversas regiones de México, así como la falta de iniciativa de pequeños productores en la formación de cooperativas agrícolas (Jiménez-Velasco *et al.*, 2017; Mendoza-Ramírez *et al.* 2022). El ToBRFV, ocasionado por la especie *Tobamovirus fructirugosum*, es una enfermedad emergente para México, considerado una plaga no cuarentenaria reglamentada (PNCR), con requisitos obligatorios para la producción de semilla libre de virus. Los primeros registros de ToBRFV se observaron en invernaderos de tomate de Ensenada, Baja California, México en 2017 (Camacho-Beltrán *et al.*, 2019), posteriormente en septiembre de 2018, fue reportado en invernaderos de tomate y chile en Yurécuaro, Michacán, México (Cambrón-Crisantos *et al.*, 2019)- Tiempo después se registró la presencia de ToBRFV infectando plantas tomate cultivadas en General Cepeda, Coahuila, México (Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2023a).

La dispersión del virus en las regiones productoras de México fue demasiado rápida a partir de la primera observación en 2014, de un virus desconocido que producía síntomas inusuales en plantaciones de tomate en Israel (Luria *et al.*, 2017). Conforme al primer reporte de ToBRFV en México, entró al estatus como Plaga accionable y en curso de erradicación, dado que

se desconocían las medidas fitosanitarias para el manejo de la enfermedad, pero en ese mismo año cambió a Plaga Cuarentenaria debido a la presencia de ToBRFV en algunas regiones productoras bajo control oficial, sin embargo inmediatamente pasó al estatus como Plaga no cuarentenaria reglamentada (PNCR) debido a la distribución en diferentes regiones productoras de México y el impacto económico en la producción de tomate (EPPO, 2024; CNRF, 2018). Se generaliza que ToBRFV se encuentra presente en todo México, sin embargo, existen pocos reportes que afirmen este criterio, lo que causa una falta de información hacia los productores, y repercute en la toma de medidas fitosanitarias para la aplicación en sus cultivos de tomate y evitar las pérdidas ocasionadas. Por lo cual, este trabajo tuvo como objeto confirmar la presencia de ToBRFV en plantas de tomate, mediante serología, molecular, prueba de patogenicidad e indexación biológica, de muestras provenientes de Oaxaca, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo y detección

En el municipio de San Pablo Guilá, Oaxaca (N16°48'10.066" W96°26'26.301") se reportó en 2023 una enfermedad que se propagó rápidamente en plantas de tomate cultivados bajo invernadero. Las plantas mostraron síntomas poco inusuales de: mosaicos, amarillamientos intervenales y ámpulas en hojas, mientras que en frutos, maduración irregular y rugosidades color marrón (Figura A y B), similares al ToBRFV descrito por Luria *et al.* (2017). El mismo problema se presentó en el siguiente ciclo de cultivo 2024, donde se observaron los mismos síntomas en tomate de la variedad Mesías (HM Clause) que portaban genes de resistencias a *Tm-2* y *Tm-2<sup>2</sup>* al *tomato mosaic virus* (ToMV). Para realizar un primer diagnóstico presuntivo, se aplicó un muestreo en zig zag, se colectaron hojas apicales con síntomas específicos, provenientes de plantas infectadas. Se tomó 0.3 g de tejido sintomático de las muestras colectadas, se homogeneizaron y se sometieron a una prueba rápida utilizando InmunoStrip (Agdia, Elkhart, USA) para corroborar la presencia del ToBRFV, en total se realizaron tres pruebas por invernadero.



**Figura 1.** Síntomas expresados en frutos y hojas de tomate bajo condiciones de invernadero. A) maduración irregular en frutos; B) mosaicos severos y deformación en hojas de tomate. (Imágenes propias de los autores).

### Ensayo de Postulados de Koch

Se sembraron semillas de tomate híbrido 172–300 (Yüksel Tohum, Antalya, Turquía) en semilleros utilizando como sustrato Peatmos y perlita en una proporción de 3:1. El trasplante se realizó 30 días posteriores a la siembra en macetas de poliuretano con capacidad de 2 kg. Las plantas de tomate se fertilizaron tres veces por semana con solución steiner al 25 % (Steiner, 1961). 10 días después del trasplante se homogeneizó en frío tejido sintomático por cada muestra y se preparó un inóculo a una concentración de 1: 10 (p/v) en solución tampón de fosfatos (STF) 0.01 M, pH 8 con celite (Merk, Ciudad de México, México). Utilizando hisopos impregnados con 100  $\mu$ L de inóculo, se dispersaron sobre las primeras dos hojas apicales de cada planta, posteriormente se lavaron las hojas con STF. Se inocularon tres plantas por cada muestra colectada, donde este proceso se repitió cinco veces. La evaluación de los síntomas comenzó desde 10 a los 30 días posteriores a la inoculación (dpi).

### Identificación DAS-ELISA del ToBRFV

Para identificar el presunto tobamovirus, se realizó un ensayo serológico con DAS-ELISA tipo sándwich (Agdia, Elkhart, Estados Unidos) a 405 nm. Las muestras procesadas correspondieron a cinco macetas por muestra colectada. El control positivo (CP) se obtuvo de plantas procedentes de una fuente de inóculo experimental ubicada en invernaderos del Departamento de Parasitología, aislado FQ3 con número de accesión NCBI (PP694587). El control negativo se tomaron plantas sanas no inoculadas con ToBRFV. El extracto infectivo se preparó a una

concentración de 1:10 (p/v). El ensayo comenzó a partir de la sensibilización de la placa para lo cual se agregó el anticuerpo de captura (ACC 00960) (Agdia, Elkhart, Estados Unidos) a una concentración de 1:200  $\mu$ L en Carbonate Coating Buffer (CCB) 1X y se incubó (12 h a  $5\pm 3$  °C) en refrigeración. Posteriormente, se maceró el tejido sintomático a una concentración de 1:10 (p/v) en bolsas de extracción (12x15 mm) (BioCiencia, Nuevo León, México) con General Extract Buffer (GEB) 1X (pH 7.5), se lavó la placa sensibilizada por tres veces con Phosphate Buffer Saline – Tween 20 (PBST 1X) y se agregó 100  $\mu$ L de las muestras extraídas, el control positivo y control negativo; se incubó la placa por 2 h a temperatura ambiente ( $24\pm 2$  °C). Se lavó la placa y se agregó el conjugado enzimático (ECA ACC 00960) (Agdia, Elkhart, Estados Unidos) a una concentración de 1:200  $\mu$ L en Liquid Concentrate Buffer (ECI) 1X (pH 7.5) e incubó por 2 h a temperatura ambiente. Por último, se preparó el sustrato p-nitrophenyl phosphate (PNP) en Buffer 1x (pH 9.8) a una concentración de 1mg mL<sup>-1</sup> y se vació 100  $\mu$ L en cada pocillo de la placa previamente lavada. Se incubó por 30 min y se procedió a la lectura, mediante densidad óptica (DO) a 405 nm utilizando un lector de placas Multiskang 60 (Thermo Fisher™, Madrid, España). Sólo se tomó una lectura a los 30 minutos. Se consideraron las muestras positivas, aquellas que arrojaron absorbancias superiores a dos veces el control negativo (0.1).

### Confirmación de la infección por ToBRFV

Para la identificación molecular, se seleccionaron las plantas pertenecientes a cada muestra con mayores síntomas, y con mayor concentración viral (DO). En

total se procesó una planta por muestra (tratamiento). Se cortaron las nervaduras de las hojas, y se extrajo ARN de las hojas sintomáticas con el kit RNA Isolation System (Promega). Se utilizaron los siguientes controles: el control negativo (CN) reacción de PCR+ agua grado PCR, control negativo de matriz (CNM) planta de tomate no infectada con ToBRFV de la misma variedad, y el control (CP) positivo, ToBRFV (Clona). La amplificación por transcripción inversa (RT) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó de acuerdo con Rodríguez-Mendoza *et al.* (2019). Se utilizó el cDNA del gen endógeno del proceso RT-PCR, los oligonucleótidos fueron ToBRFV-F (5'-AACCAGAGTCTTCCCTATACTCGGAA-3') y ToBRFV-R (5'-CTCACCATCTCTTAATAATCTCCT-3'), diseñados para amplificar un fragmento de la región 475 pb (Rodríguez-Mendoza *et al.*, 2019). Se aplicó el programa siguiente en el termociclador: un ciclo inicial a 98 °C por 90 s, seguido de 35 ciclos a 98 °C por 10 s, 35 ciclos a 55 °C por 20 s, 35 ciclos a 72 °C por 40 s y finalmente un ciclo a 72 °C por 5 minutos. Los productos de amplificación resultantes se observaron en un gel de agarosa al 1.5 %.

### Ensayo de indexación biológica

Para el ensayo de indexación biológica se sembraron plantas de *Chenopodium giganteum* D. Don y *Nicotiana longiflora* Cav., en macetas de poliuretano con capacidad de 2 kg, utilizando como sustrato peatmos y perlita en una proporción de 3:1. Las plantas se fertilizaron como solución Steiner al 25% (Steiner, 1961). Se seleccionaron tres plantas de tomate por muestra del ensayo de postulados de Koch, y se colectaron folíolos apicales sintomáticos y preparó un inóculo ToBRFV a 1:10 (p/v) en STF. La inoculación se realizó 10 días posteriores a la siembra, utilizando un hisopo impregnado con 100 µL de sabia infectiva, se dispersó sobre las hojas completas de cada planta de *N. longiflora* y *Ch. amaranticolor*, se inocularon cinco hojas por planta. La evaluación de lesiones cloróticas locales y lesiones locales necróticas se realizó a los 15 días posteriores a la inoculación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Validación de postulados de Koch

La aplicación de los postulados de Koch demostró la presencia de ToBRFV en las muestras analizadas provenientes de una región de Oaxaca. Los síntomas comenzaron a expresarse a partir de los 10 dpi. Se observaron leves ampulaciones en las primeras hojas inoculadas de *S. lycopersicum* (Figura 2 A), a los 20 dpi, se observaron mosaicos severos, además ampulaciones en hojas de toda la planta (Figura 2B y

2C), a los 30 dpi se observaron infecciones sistémicas en las plantas de las muestras estudiadas; ampulaciones severas, deformaciones en hojas, enrollamientos, mosaicos severos y reducción de la lámina foliar (Figura D). Los postulados de Koch demostraron el desarrollo de los síntomas esperados por ToBRFV de acuerdo con Luria *et al.* (2017); Camacho-Beltrán *et al.* (2019).

ToBRFV ocasiona diferentes síntomas, los cuales varían de acuerdo con el genotipo del hospedante que infecte, estación, temperatura, condiciones de desarrollo ya sea en invernadero o campo abierto, edad de la planta y momento de la infección (Caruso *et al.*, 2022). Dichos síntomas directos como indirectos impactan de forma negativa en la calidad y el valor económico de la producción, resultando en pérdidas económicas (Menzel *et al.*, 2019). En su mayoría los tobamovirus comparten expresiones de síntomas similares, sin embargo, ToBRFV se caracteriza por presentar síndromes más severos que cualquier otra especie del mismo género. De los síntomas de ToBRFV en hojas destacan mosaicos, ampulaciones, deformaciones, en frutos deformación, rugosidades color marrón, moteados, maduración irregular, manchas amarillas y necrosis externa como interna (González-Concha *et al.*, 2023; Jewehan *et al.*, 2022; Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2023a; Zhang *et al.*, 2022; Algunos de estos síntomas concordaron con los observados en nuestro trabajo.

### Confirmación de ToBRFV

La primera detección realizada con InmunoStrip (Agdia) en hojas de tomate colectadas de plantas procedentes de invernadero dio positivo al ToBRFV (Figura 2A). La técnica serológica mediante DAS-ELISA, confirmó la presencia de ToBRFV en plantas de tomate inoculadas en los postulados de Koch. Todas las muestras analizadas por DAS-ELISA presentaron mayores absorbancias por encima de dos veces el testigo negativo (0.1) por lo que se consideraron positivas a ToBRFV. La técnica mediante RT-PCR confirmó la presencia de ToBRFV, donde todas las muestras procesadas amplificaron una amplicón de 475 pb (Figura 3).

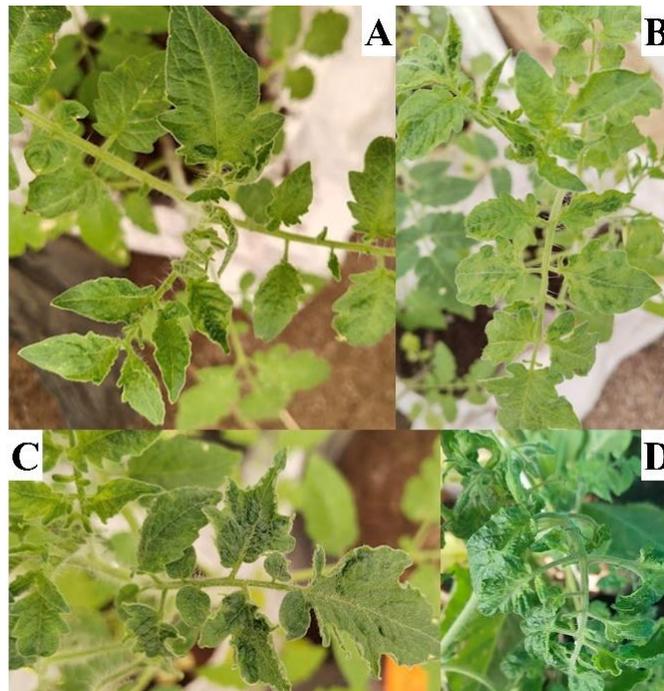
La detección de ToBRFV mediante técnicas rápidas como InmunoStrip (Agdia) y DAS-ELISA (Agdia) apoya el diagnóstico de ToBRFV, alertando la presencia del virus en plantas de tomate para la toma de decisiones de manejo, debido a su sensibilidad analítica, con un rango de 64 a 320 pg/mL) proporciona una alta especificidad en el diagnóstico de diversos aislados de ToBRFV de hasta el 100 % (Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2024; Eads *et al.*, 2023). Por otro lado, los diferentes protocolos basados en la amplificación de ácidos nucleicos, que incluyen: PCR en tiempo real (RT-PCR), PCR cuantitativa en tiempo

real (RT-qPCR), y PCR digital (ddPCR) para detección en folíolos, frutos y semillas (Panno *et al.*, 2019b; Rodríguez-Mendoza *et al.*, 2019; Chanda *et al.*, 2021b; Yan *et al.*, 2021b; Menzel y Winter, 2019) amplían las estrategias de diagnóstico del virus en tiempo real.

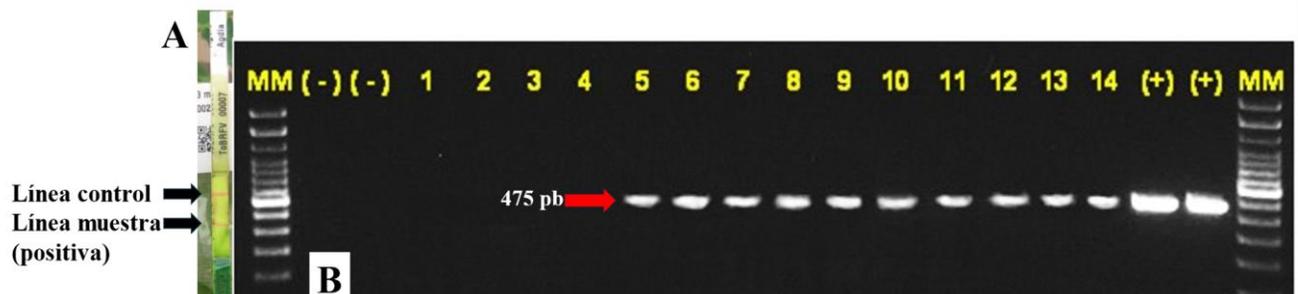
### Diagnóstico de ToBRFV a partir de plantas diferenciales

Las hojas inoculadas con ToBRFV de *Chenopodium giganteum* produjeron lesiones locales cloróticas (Figura 4A) como respuesta de hipersensibilidad ante la infección del virus, por otro lado, la inoculación en

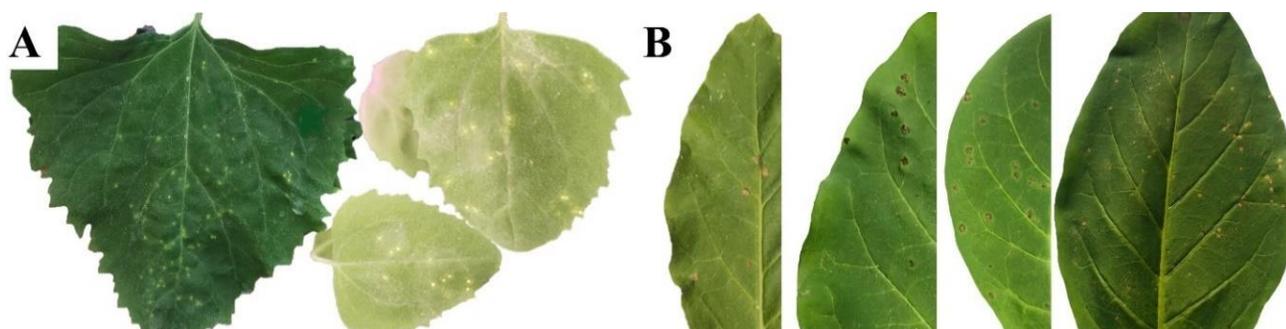
hojas de *Nicotiana longiflora* expresaron lesiones locales necróticas (Figura 4B) esto coadyuva en determinar la presencia de ToBRFV en las muestras analizadas. La indexación biológica mediante plantas diferenciales es un método muy utilizable para el diagnóstico de ToBRFV (Yan *et al.*, 2021b) debido a su expresión de síntomas locales. En su mayoría suelen utilizarse las especies de: *Chenopodium giganteum*, *Nicotiana tabacum* cv. Samsum, *Nicotiana clevelandii*, *Nicotiana glutinosa* y *N. tabacum* var. Xanthi-nc. Sin embargo, el uso de *Nicotiana longiflora* es la segunda vez que se menciona y destaca su uso en el diagnóstico de ToBRFV con plantas diferenciales (Vásquez-Gutiérrez *et al.*, 2024).



**Figura 2.** Progreso de la expresión de síntomas en plantas inoculadas con muestras infectadas de ToBRFV. A-D) leves ampulaciones, mosaicos severos y deformación de folíolos. (Imágenes propias de los autores).



**Figura 3. Identificación de ToBRFV por immunoStrip y RT-PCR.** A) detección rápida de ToBRFV a partir de immunoStrip (Agdia); B) Resultado de la identificación molecular de ToBRFV en muestras de tomate colectadas en invernaderos de Oaxaca. MM: marcador de peso molecular con un tamaño de 1 kb y divisiones de 100 pb. (-) control negativo (Reacción de PCR+ Agua grado PCR); 1-2: control negativo de matriz; 5-6: muestra 1; 7-8: muestra 2; 9-10: muestra 3; 11-12: muestra 4; 13-14 Muestra 5; (+) Control positivo: ToBRFV (Clona).



**Figura 4.** Plantas diferenciales en el diagnóstico de ToBRFV. A) lesiones locales cloróticas producidas en hojas de *Ch. giganteum*; B) lesiones locales necróticas en hojas de *N. longiflora*. (Imágenes propias de los autores).

## CONCLUSIÓN

Se detectó y confirmó por primera vez plantas de tomate infectadas por ToBRFV en invernaderos en Oaxaca, México.

**Funding.** This research did not receive either public or private funds.

**Conflict of interests.** Nothing to declare.

**Compliance with ethical standards.** Do not apply.

**Data availability.** Data is available upon reasonable request to Ubilfrido Vásquez-Gutiérrez ([vagu.99@hotmail.com](mailto:vagu.99@hotmail.com))

**Author contribution statement (CRediT).** U. Vásquez-Gutiérrez-investigation, methodology, writing – original draft, data curation., G. A. Frías-Treviño-methodology, writing –review and editing, supervision., J.C. Delgado-Ortiz- supervision, writing- review and editing, conceptualización., A. Flores-Olivas- writing- review and editing., L.A. Aguirre-Uribe- writing – review and editing.

## REFERENCES

- Barbanti, A., Torrado, H., Macpherson, E., Bargelloni, L., Franch, R., Carreras, C. and Pascual, M., 2020. Helping decision making for reliable and cost-effective 2b-RAD sequencing and genotyping analyses in non-model species. *Molecular Ecology Resources*, 20(3), pp. 795–806. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13144>
- Camacho-Beltrán, E., Pérez-Villarreal, A., Pérez-Leyva, N.E., Rodríguez-Negrete, E.A., Cenicerros-Ojeda, E.A. and Méndez-Lozano, J., 2019. Occurrence of *Tomato brown rugose fruit virus* infecting tomato crops in Mexico. *Plant Disease*, 103(6), pp. 1440.
- Cambrón-Crisantos, J. M., Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, J.B., Alcasio-Rangel S., García-Ávila, C.J., López-Buenfil, J.A. and Ochoa-Martínez, D.L., 2019. First report of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in Michoacan, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(1), pp. 185-192. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1810-5>
- Chanda, B., Shamimuzzaman, M., Gilliard, A. and Ling, K.S., 2021. Effectiveness of disinfectants against the spread of Tobamoviruses: *Tomato brown rugose fruit virus* and *Cucumber green mottle mosaic virus*. *Virology Journal*, 18(7), pp. 12. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01479-8>
- CNRF., 2018. Análisis de riesgo de plagas del Tomate Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) como plaga no cuarentenaria reglamentada para México. Centro Nacional de Referencia fitosanitaria (CNRF). Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), pp. 9.
- 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), pp. 206-213. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-03-22-0033-FI>
- EPPO., 2024. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). Database EPPO Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV). Disponible en: <https://gd.eppo.int/taxon/TOBRFV/distribucion> (Consultado: 14-04-2024).

- González-Concha, L.F., Ramírez-Gil, J.G., Mora-Romero, G.A., García-Estrada, R.S., Carrillo-Fasio, J.A. and Tovar-Pedraza, J.M., 2023. Development of a scale for assessment of disease severity and impact of *Tomato brown rugose fruit virus* on tomato yield. *European Journal of Plant Pathology*, 165(3), pp. 579-592. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02629-0>
- Jewehan, A., Kiemo, F.W. and Salem, N., 2022. Isolation and molecular characterization of a *Tomato brown rugose fruit virus* mutant breaking the tobamovirus resistance found in wild *Solanum* species. *Archives Virology*, 167, pp. 1559–1563. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05438-2>
- Jiménez-Velázquez, M.A. and González-Burgos, G., 2017. Análisis de recursos externos en la producción agrícola. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(SPE18), pp. 3739-3753. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i18.218>
- 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(1), pp. e0170429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170429>
- Mendoza-Ramírez, L., Espinosa-Trujillo, M.A. and López-Cruz, E., 2022. ¿Por qué los pequeños productores de jitomate de San Pablo Güilá trabajan de manera individual? *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*. 19 (1), pp. 30-46. <https://doi.org/10.22231/asyd.v19i1.1011>
- 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, pp. 143–148. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1316.20>
- Panno, S., Ruiz-Ruiz, S., Caruso, A.G., Alfaro-Fernandez, A., San Ambrosio, M.I.F. 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. *Peer Journal*, 7, pp. e7928. <https://doi.org/10.7717/peerj.7928>
- Rodríguez-Mendoza, J., García-Ávila, C.J., López-Buenfil, J.A., Araujo-Ruiz, K., Quezada-Salinas, A., Cambrón-Crisantos, J.M. and Ochoa-Martínez, D.L., 2019. Identificación de *Tomato brown rugose fruit virus* por RT-PCR de una región codificante de la replicasa (RdRP). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(2), pp. 345-356. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1902-6>
- SIAP. 2022. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/boletín-mensual> (Consultado: 11-04-2024).
- Vásquez-Gutiérrez, U., Frías-Treviño, G.A., Delgado-Ortiz, J.C., Aguirre-Urbe, L.A. 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* 7(2), pp. 1-6. <https://dx.doi.org/10.22161/ijhaf.7.2>
- Vásquez-Gutiérrez, U., López-López, H., Frías-Treviño, G.A., Delgado-Ortiz, J.C., Flores-Olivas, A., Aguirre-Urbe, L.A. and Hernández-Juarez, A., 2024a. Biological Exploration and Physicochemical Characteristics of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* in Several Host Crops. *Agronomy*, 14(2), pp. 388. <https://doi.org/10.3390/agronomy14020388>
- Yan, Z.Y., Zhao, M.S., Liu, L.Z., Yang, G.L., Chao, G., Yanping, T. and Li, X.D., 2021b. Biological and molecular characterization of *Tomato brown rugose fruit virus* and development of quadruplex RT-PCR detection. *Journal of Integrative Agriculture*, 20(7), pp. 1871-1879. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63275-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63275-0)
- Zhang, S., Griffiths, J.S., Marchand, G., Bernards, M.A. 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, pp. 1262–1277. <https://doi.org/10.1111/mpp.13229>