



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA

Detección y caracterización del virus meridional del tomate (STV)

TESIS DOCTORAL

LAURA ELVIRA GONZÁLEZ

Dirigida por:

Dr. Luis Galipienso Torregrosa

Enero 2021

Índice

Resumen	11
Resum	15
Abstract	19
Abreviaturas	23
Introducción general	
- El cultivo de tomate	30
- Virus de plantas	32
- Evolución de los virus de plantas	35
- Control de las enfermedades producidas por virus	36
- Métodos de detección basados en técnicas moleculares	38
- Interacción virus-hospedador	44
- Mecanismo de defensa de la planta frente a patógenos	
o Respuesta hipersensible	45
o Silenciamiento génico	46
- Interacción entre virus: infecciones múltiples	49
- El virus meridional del tomate	51
Justificación y Objetivos	56
Capítulo 1. Desarrollo de métodos de detección del virus meridional del tomate (STV)	
- Introducción	60
- Resultados	
o 1.1 Detección del STV mediante RT-LAMP	62
o 1.2 Detección y cuantificación del STV mediante RT-qPCR	68

○ 1.3 Detección del STV en plantaciones comerciales de tomate, en plántulas distribuidas por viveros y en lotes de semillas de diferentes variedades	72
- Discusión	75
Capítulo 2. Diversidad genética y evolución del virus meridional del tomate (STV)	
- Introducción	81
- Resultados	81
- Discusión	86
Capítulo 3. Interacción del virus meridional del tomate (STV) con su hospedador, la planta de tomate	
- Introducción	90
- Resultados	
○ 3.1 Estudio de la influencia del STV en la producción de tomate	92
○ 3.2 Estudio del efecto de la infección por el STV en la conductividad estomática, fotosíntesis y peso de las plantas de tomate	93
○ 3.3 estudio histológico de tejido de tomate infectado con el STV	98
○ 3.4 Efecto de la infección por el STV en la acumulación de siRNAs	100
○ 3.5 Estudio de la función supresora de silenciamiento génico de la proteína p42 del STV	102
- Discusión	104
Capítulo 4. Interacción del virus meridional del tomate (STV) con virus agudos del cultivo del tomate	
- Introducción	111
- Resultados	
○ 4.1 Síntomas en plantas de tomate infectadas con el STV, CMV y PepMV en condiciones de infección simple y múltiple	113

○ 4.2 Acumulación viral del STV, CMV y PepMV en plantas de tomate en condiciones de infección simple y múltiple	118
○ 4.3 Acumulación de siRNAs en plantas de tomate infectadas con el STV, CMV y PepMV en condiciones de infección simple y múltiple	120
- Discusión	128
Discusión general	135
Conclusiones	143
Materiales y métodos	
- Material vegetal	150
- Extracción y purificación de ácidos nucleicos.....	151
- Elaboración de las construcciones para los ensayos de expresión transitoria.....	152
- Agroinfiltración	153
- Purificación de viriones	153
- Análisis de tejidos de tomate mediante microscopía óptica y electrónica	154
- ELISA	154
- Hibridación molecular	155
- Diseño de cebadores y sonda	156
- Retrotranscripción (RT)	156
- PCR convencional	157
- RT-LAMP	158
- RT-qPCR	158
- Elaboración de transcritos y curva patrón para la cuantificación absoluta del virus.....	159
- Análisis estadísticos	159
- Análisis de diversidad genética y de evolución	160

- Análisis de transpiración y fotosíntesis.....	160
- Secuenciación de ácidos nucleicos.....	161
- Separación electroforética de ácidos nucleicos.....	162
Bibliografía	166
Agradecimientos	196
Anexos	200