



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

Noviembre 2020

# **Resumen**

El virus meridional del tomate (Southern tomato virus, STV) es un virus persistente (género *Amalgavirus*, familia *Amalgaviridae*) que se ha detectado en diversos países, algunos de la Cuenca Mediterránea como España e Italia. Inicialmente, el STV fue asociado a distintos síntomas, principalmente anomalías en la coloración y maduración del fruto de tomate. Sin embargo, la presencia frecuente de virus agudos en las plantas infectadas con el STV y la detección de éste en plantas asintomáticas, ponen en duda su patogenicidad y el impacto que puede tener en el cultivo.

En esta tesis doctoral se han estudiado diversos aspectos de este virus. En primer lugar, se puso a punto la RT-LAMP y la RT-qPCR para la detección específica y sensible del STV. La RT-LAMP permitió reducir costes y simplificar el procedimiento, siendo muy útil para la detección del virus en campo. La RT-qPCR es una técnica muy sensible que nos permitió detectar y cuantificar el STV en distintos tipos de tejidos de tomate, incluyendo semillas individuales. El virus se acumulaba principalmente en las raíces y hojas, y en las semillas se encontraba tanto en cubierta como en embrión, lo que dificulta las tareas de desinfección de las mismas. Se comprobó que las tasas de transmisión por semilla del STV podían alcanzar el 80% y la incidencia en campo del virus era muy elevada en la Comunidad Valenciana y en las Islas Canarias. Los análisis de plántulas de tomate revelaron la presencia del STV en la mayoría de los viveros de la Comunidad Valenciana que se analizaron. La incidencia del STV era mayor en las variedades de tomate comerciales (semillas distribuidas por empresas) que en las locales (generadas por los propios agricultores) tanto en plantas de campo como en las plántulas de viveros y semillas.

Los estudios filogenéticos realizados en este trabajo empleando la región que codifica para la p42 (posible CP) de diferentes aislados del STV mostraron que el virus tenía una baja diversidad genética con una fuerte presión de selección negativa. Además, no había una correlación entre distancia genética del virus y origen geográfico. Esto podía ser debido a una rápida dispersión del virus a través de la comercialización de semillas infectadas y/o a la fuerte presión de selección negativa. En este trabajo se obtuvieron evidencias experimentales de que el STV en condiciones de infección simple no inducía síntomas en la planta, no alteraba la producción, ni afectaba a parámetros fisiológicos importantes como conductividad estomática, fotosíntesis y peso, en condiciones de estrés salino. La observación al microscopio óptico y electrónico no reveló la presencia de partículas virales ni cambios a nivel tisular ni celular asociados a enfermedad. Sin

embargo, el análisis de las poblaciones de siRNAs mostró que el STV era capaz de modificar la expresión de algunos miRNAs con importantes funciones. Se detectaron muy poca cantidad de vsiRNAs derivados del STV, lo cual podría deberse a la supresión del mecanismo de silenciamiento génico de la planta por acción de un supresor (VSR) codificado por el virus. Los ensayos de expresión transitoria en plantas de *Nicotiana benthamiana* 16C para determinar la capacidad supresora de la p42 del STV no revelaron que esta proteína fuera un VSR.

En la última parte de este trabajo estudiamos el efecto que podía tener el STV en infecciones múltiples con otros virus agudos frecuentes como el CMV y el PepMV. Se obtuvieron evidencias experimentales de complejas interacciones entre los virus que implicaban variaciones en la severidad de síntomas, en los niveles de acumulación viral y en las poblaciones de miRNAs y vsiRNAs. El STV y el CMV establecían una interacción sinérgica que producía el adelanto de los síntomas y el incremento de su severidad, junto con un aumento de la acumulación del CMV en las primeras fases de la infección. Por otro lado, la presencia del STV en plantas infectadas con el PepMV también producía un adelanto de los síntomas, aunque en este caso no había variaciones en la acumulación viral del PepMV. En el grupo de plantas coinfectadas con el CMV y PepMV se observó un efecto antagónico que disminuía la concentración del CMV, alterándose los síntomas de la planta con respecto a las infecciones simples. El STV era capaz de romper este efecto antagónico aumentando la concentración del CMV y modificando nuevamente los síntomas. Los análisis de siRNAs permitieron identificar un total de 78 miRNAs, 47 eran noveles miRNAs, que se expresaban diferencialmente en los grupos de plantas infectadas con los diferentes virus respecto a las plantas sin infectar. Estos miRNAs estaban implicados en la regulación de importantes funciones y tanto su número como su nivel de expresión variaban dependiendo de la combinación de virus. También se identificaron vsiRNAs de origen viral y se vio que su proporción variaba dependiendo del virus y de la combinación con otros virus. La cantidad de vsiRNAs del STV en las plantas infectadas solo con el virus fue muy pequeña, pero se incrementaba notablemente con la presencia de otros virus, principalmente el CMV. Las frecuencias de acumulación de vsiRNAs en los genomas virales no era uniforme en ningún virus, observándose regiones de acumulación con picos. Sin embargo, los patrones de distribución de vsiRNAs para cada virus no parecían estar influenciados por otros virus en los diferentes grupos de plantas.