

Determinación de la persistencia e inactivación *in vitro* del ToBRFV a partir de inoculaciones en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.)

Persistence and inactivation determination of the *in vitro* of ToBRFV from inoculations in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)

Ubilfrido Vasquez-Gutierrez^{1*}, Gustavo Alberto Frías-Treviño¹, Juan Carlos Delgado-Ortiz^{1,2}, Agustín Hernández-Juárez¹.

¹Departamento de Parasitología, ²Conahcyt-Investigador por México, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro, 1923, CP 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

*Autor para correspondencia: d_ubilfrido.vazquezG@uaaan.edu.mx

RESUMEN

Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) es considerado un patógeno emergente, con alta persistencia en semilla. Se han reportado técnicas de desinfección de herramientas, que reducen la aparición y la diseminación de este patógeno en invernaderos. En este estudio se evaluaron dos ensayos, el primero consistió en determinar la persistencia de ToBRFV *in vitro* a nivel invernadero. Se utilizaron plantas de tabaco *var. Samsun* como indicadoras de lesiones locales necróticas (LLN), estas fueron establecidas en macetas de plástico de 1.5L. Se maceró tejido crudo positivo a ToBRFV con inmunostrip® y DAS-ELISA^{DO: 415nm} a 1:10 (p/v) en H₂O destilada. La sabia infectiva se mantuvo a temperatura ambiente. Se establecieron intervalos en progresión geométrica de 1, 4, 8 y 16 días. Donde cada intervalo se consideró un tratamiento. También se evaluó sabia almacenada por 330 días a condiciones ambientales (20±23°C), preparada con H₂O. El segundo ensayo, para determinar la inactivación térmica de ToBRFV, se probaron tres temperaturas: 70°C durante 20 min, 85 °C con 15 min y 30 min a 100rpm, se incubaron en una IncumixTM. Como testigos se utilizaron: sin tratamiento térmico y sin virus. Los extractos crudos se derivaron de 1g de tejido infectado a 1:10 (p/v) con una solución tampón de fosfatos (0.01M). Para cada ensayo, usamos 20 medias hojas desprendidas por tratamiento en la cual se inocularon 100µl de sabia en cada hoja. La inspección de LLN se realizó 6 días posteriores a la inoculación (dpi). Los resultados mostraron que ToBRFV se mantiene latente *in vitro*, capaz de sobrevivir en ausencia de tejido vegetal y producir infecciones locales en tabaco, como mecanismo de resistencia. Por otro lado, ToBRFV se inactivó completamente a 85°C. Estos resultados demuestran que la inactivación térmica puede ser aplicable para la desinfección de equipos y herramientas utilizados en labores culturales de invernaderos.

Palabras clave: Diseminación, estabilidad, latente, persistencia, térmico.