Análisis filodinámico del virus rugoso del tomate (ToBRFV) a partir de aguas residuales y cultivo de tomate

Ibañez, M(1)*; Zambrana Montaño, RM(2,3)*; Carreras, P(4,5)*; Obregón, V(1); Irazoqui, JM(6); Vera, PA(7); Lattar, TE(1); Blanco Fernández, MD(2,3); Puebla, AF(7); Amadio, AF(6); Torres, C(2,3); López Lambertini, PM(4,5). *Primera autoría compartida

(1) Estación Experimental INTA Bell Vista; (2) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM); (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (4) Instituto de Patología Vegetal (IPAVE), INTA; (5) Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola (UFYMA) INTA-CONICET; (6) Instituto de Investigaciones de la Cadena Láctea (IDICAL) INTA-CONICET; (7) Unidad de Genómica y Bioinformática, INTA.
Contacto: rominazambr@gmail.com

El análisis metagenómico de aguas residuales permite la detección de virus emergentes con impacto sobre la salud humana, animal y vegetal. *Tobamovirus fructirugosum* (tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV), conocido por su nombre vulgar como el virus rugoso del tomate, es un tobamovirus emergente y una amenaza para el cultivo de tomate a nivel mundial. ToBRFV se transmite por semilla y de manera mecánica. Además, sus partículas son estables contaminando superficies, suelo y agua. En Argentina, ToBRFV se identificó por primera vez infectando tomate en Corrientes en 2022 y actualmente ya está presente en regiones productoras de 5 provincias. El objetivo de este trabajo fue analizar el origen y dispersión del ToBRFV en Argentina a partir del análisis filogeográfico de los genomas completos obtenidos desde muestras de aguas residuales y aislamientos de tomates infectados. Se recolectaron cuatro muestras de aguas residuales (2L) en la ciudad de Berisso, Buenos Aires, entre febrero y diciembre de 2022. Las muestras fueron concentradas por ultrafiltración y precipitación con PEG, seguido por la extracción del ARN viral, una amplificación por cebador único independiente de secuencia (SISPA) y secuenciación en la plataforma Illumina (2x150pb). Las lecturas fueron filtradas por calidad y tamaño (TrimGalore). Luego, se realizaron los alineamientos (BWA) y se obtuvieron genomas consenso (Samtools v.1.13 e iVar v1.4.2). Se realizaron análisis filogenéticos (IQ-TREE v2.1) y filodinámicos (BEAST v1.10.4) con los cuatro genomas completos obtenidos a partir de las muestras de aguas residuales, dos genomas completos obtenidos de aislamientos de tomate de Corrientes y La Plata, y 193 genomas de la base de datos NCBI. Todas las secuencias de Argentina formaron un grupo monofilético con alto soporte, lo que sugiere una única introducción para los virus detectados en el país hasta el momento. En el análisis filodinámico se observó que el ToBRFV comenzó su diversificación en Argentina en agosto de 2021 (HPD95%= noviembre 2020-diciembre 2021), a partir de un virus inicialmente localizado en Israel (probabilidad posterior del estado ancestral= 0,99). Además, se observó que el

ToBRFV comenzó su diversificación a nivel mundial en junio de 2013 (HPD95%= marzo 2012-mayo 2014), siendo Israel la localización ancestral más probable, coincidente con los primeros reportes, y mostrando un crecimiento exponencial hasta 2020. Además, se estimó una tasa de sustitución global de 2,9×10?? sustituciones por sitio por año (HPD95%= 2,2×10??-3,6×10??), compatible con lo esperado para un virus con genoma de ARN. En conclusión, los resultados obtenidos permitieron modelar los procesos de dispersión del ToBRFV en el espacio-tiempo. Además, la inclusión en el análisis de secuencias virales partir de tomate y de aguas residuales destaca la importancia de utilizar el monitoreo de virus en aguas residuales como una herramienta de vigilancia epidemiológica de virus emergentes en plantas.