

EL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE (PepMV): INCIDENCIA DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES, LA GENÉTICA DEL VIRUS Y LAS VARIEDADES DE TOMATE EN LOS SÍNTOMAS INDUCIDOS POR PepMV Y SU ACUMULACIÓN EN LAS PLANTAS INFECTADAS

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), 30100 Espinardo, Murcia.

INTRODUCCIÓN

PepMV se identificó en 1974 como el agente causante de una enfermedad que afectaba cultivos de pepino dulce (*Solanum muricatum*) en Perú (Jones y col., 1980), y se reconoció como patógeno de tomate en Holanda en 1999 (van der Vlugt y col., 2000). A partir de esta primera cita en tomate, y en un periodo de 4 años, aparecieron focos de la enfermedad causada por PepMV en las principales zonas productoras de tomate de Europa y América. Se piensa que PepMV se introdujo en Europa desde América del Sur dando lugar a múltiples focos epidémicos dispersos geográficamente, incluyendo el Sureste de la Península Ibérica y las Islas Canarias. PepMV hoy en día está considerado como un virus de gran importancia para la agricultura, estando incluido en la lista de alertas de la Organización Europea de Protección de Cultivos (EPPO, 2011). En los últimos años, el estado global de la epidemia causada por PepMV no ha cambiado mucho (Figura 1). A pesar de la implementación de programas permanentes de prevención y vigilancia, PepMV persiste en muchas regiones templadas de América, África, Asia y Europa (revisado

en Gómez y col., 2012b). En Europa su presencia está descrita en 19 países y supone una grave amenaza para la producción de tomate en muchos de ellos. En España, PepMV se describió por primera vez en el año 2000 (Jordá y col., 2000). La mayor incidencia de la enfermedad causada por PepMV se da en las provincias de Murcia, Almería y en el archipiélago canario (Pagan y col., 2006; Soler-Aleixandre y col., 2007). De momento, no se ha descrito que PepMV constituya un problema grave en regiones donde se cultiva tomate al aire libre para procesamiento industrial, por ejemplo en Extremadura y La Rioja.

PepMV parece afectar sólo a cultivos intensivos de tomate, preferentemente protegidos, y se manifiesta con especial gravedad en el Sureste español en los cultivos de otoño. De forma natural este virus infecta pepino dulce y tomate, aunque experimentalmente PepMV infecta también plantas de 30 especies de la familia *Solanaceae*. En condiciones experimentales se ha demostrado que PepMV infecta cultivos como berenjena, patata, tabaco y albahaca (Gómez y col., 2009; Jones y col., 1980; Salomone y Roggero, 2002). Recientemente también se ha demostrado que el ajo y el haba pueden ser huéspedes de PepMV (Fakhro y col., 2011).



Figura 1. Distribución de la enfermedad causada por PepMV a nivel mundial (EPPO, 2011).

Sin embargo, aunque entre los huéspedes citados se encuentren cultivos de importancia, hasta la fecha no se han descrito incidencias importantes en cultivos distintos del tomate. Por otro lado, muestreos de plantas adventicias (o malas hierbas) llevados a cabo en los alrededores de las parcelas e invernaderos con plantas de tomate infectados con PepMV han demostrado que PepMV puede infectar plantas de especies silvestres que muy probablemente tengan un papel importante en la epidemiología de PepMV actuando como reservorios de la enfermedad.

VARIABILIDAD GENÉTICA DE PepMV

Variabilidad en el mundo

La secuenciación de los genomas, y la comparación de las secuencias de varios aislados de PepMV procedentes de diferentes países del mundo, ha permitido distinguir cuatro tipos genéticos fundamentales: el tipo "peruano original", que agrupa a los aislados similares al primer aislado descrito por Jones infectando *Solanum peruvianum* (Jones y col., 1980; Verhoeven y col., 2003), el tipo "europeo", que agrupa a los aislados similares al detectado en tomate en Holanda en 2001 (López y col., 2005; Mumford y Metcalfe, 2001), el tipo "norteamericano" que agrupa a aislados similares a los descritos por Maroon-Lango y col. (2005) procedentes de cultivos de tomate de Arizona, recolectados en 2001, y el tipo "chileno", que agrupa a aislados similares a los que fueron caracterizados por Ling (2007) en Estados Unidos infectando semillas procedentes de tomate de Chile (Hanssen and Thomma, 2010; Ling, 2007; Maroon-Lango y col., 2005).

La comparación de las secuencias obtenidas entre aislados de tomate pertenecientes al tipo europeo y procedentes de varios países europeos indica un alto grado de similitud entre éstas (del 99 al 100%), mientras que la comparación de estas secuencias con las de aislados de tipo peruano, o las de aislados de tipo norteamericano es mucho menor (del 95% y 78-86%, respectivamente). Aunque los aislados de tipo peruano y europeo son muy parecidos (similitud del 95%) fueron considerados distintos porque parecía haber diferencias en la gravedad de los síntomas que inducían en tomate. Por otro lado, la comparación de las secuencias de aislados de tipo chileno

no con las de otros tipos mostró que estos presentaban mayor homología de secuencia con los aislados de tipo norteamericano (91-99%) que con los europeos o peruanos (78-86%). Más recientemente se han identificado en Polonia unos aislados que muestran un comportamiento biológico diferente al observado hasta el momento con los aislados europeos, incluyendo inducción de graves necrosis en tomate y en plantas de una especie (*Datura innoxia*) que se utiliza como indicador experimental (Hasiów y col., 2009). Estos nuevos aislados necróticos parecen estar más cercanos a los de tipo chileno, aunque también han sido identificados aislados necróticos de tipo europeo (Schenk y col., 2010; Hasiow y col., 2012). Los análisis filogenéticos con las secuencias completas muestran una tendencia a formarse dos grupos principales (Figura 2), uno que contiene los aislados del tipo europeo y peruano, y otro que contiene los tipos norteamericano y chileno, lo cual sugiere que estos dos grupos principales han seguido dos rutas evolutivas distintas.

Variabilidad en España

Durante los últimos años, varios trabajos de investigación se han centrado en el estudio de la variabilidad genética y dinámica evolutiva de las poblaciones de PepMV en España (Gómez y col., 2012a; Gómez y col., 2009; Pagan y col., 2006). Hasta el año 2004 la mayoría de las infecciones, más del 80%, estaban ocasionadas por infecciones simples de aislados de tipo europeo (Pagan y col., 2006). Una fracción minoritaria estaba compuesta por infecciones mixtas, de las cuales el 80% eran infecciones mixtas europeo-peruano y el 20% europeo-chileno. Sin embargo, a partir del año 2005, la población de PepMV en España dio un giro y comenzaron a prevalecer las infecciones de aislados de tipo chileno. Muestreos realizados en la región de Murcia entre los años 2005 y 2008 mostraron que la población estaba compuesta principalmente por aislados de tipo chileno, aunque en una proporción elevada se daban infecciones mixtas de aislados de tipo europeo y chileno (Figura 3) (Gómez y col., 2009). Por tanto, aunque prevalecen las infecciones de aislados de tipo chileno, los aislados de tipo europeo no han sido desplazados y se mantienen en infecciones mixtas.

DIVERSIDAD DE SÍNTOMAS INDUCIDOS POR PepMV

Se han asociado una gran variedad de síntomas a las infecciones de plantas de tomate por PepMV (Hanssen y col., 2009; Pagán y col., 2006). Los síntomas comprenden filimorfismos, mosaicos verdes suaves, mosaicos amarillos suaves y brillantes (Figuras 4.1, 4.2 y 4.3), abullonados pronunciados (Figura 4.4) y otras distorsiones de hojas, estriaduras verdes en los tallos (Figura 4.5), crecimiento reducido de las plantas y más recientemente se ha descrito la aparición de necrosis en tallos y frutos (Hasiów-Jaroszewska y col., 2010). Sin embargo, el mayor impacto de PepMV es en la calidad de los frutos (Hanssen y col., 2009; Spence y col., 2006). Los síntomas en frutos (Figura 5) pueden aparecer con o sin síntomas en el resto de la planta, y parecen depender de la variedad de tomate (Fakhro y col., 2010), condiciones de luz y temperatura en el interior del invernadero y del aislado de PepMV. Los frutos maduros pueden presentar mosaicos o maduración irregular, manifestando un jaspeado en diferentes tonalidades que resulta de una distribución irregular de pigmentos, lo cual hace que pierdan todo o gran parte de su valor comercial (Figura 5) (Soler y col., 2000). Esta sintomatología del fruto puede desaparecer si las condiciones ambientales cambian, sobre todo teniendo días soleados y cálidos, de forma que parece que la infección se ha erradicado. El hecho de que plantas sintomáticas dejen de serlo no implica que se hayan eliminado los virus, tal y como han mostrado análisis realizados en diferentes casos en los que se observó que la infección en estas plantas continúa (Elorrieta y col., 2011). Por otro lado, parece que existe, bajo determinadas circunstancias, cierta asociación entre la presencia de PepMV y el colapso de la planta, fenómeno aún bajo estudio.

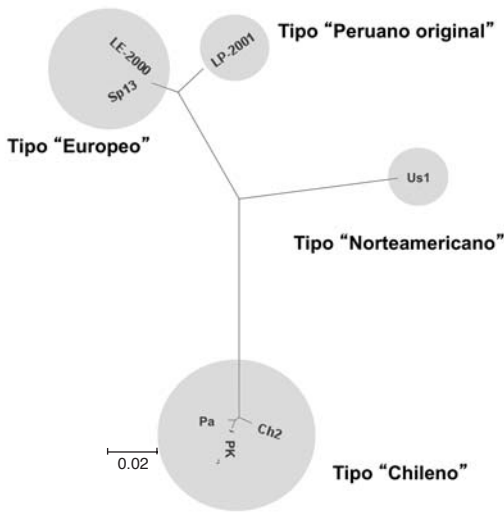


Figura 2. Variabilidad en el mundo. Árboles filogenéticos de las secuencias completas de siete aislados de PepMV

Figura 3. Frecuencias de aislados de PepMV en España. Detección de aislados de PepMV tipo europeo (PepMV-EU) y tipo chileno (PepMV-Ch2) en muestras de tomate comercial infectadas procedentes de la Región de Murcia. Los datos comprendidos entre los años 2000 y 2004 pertenecen a Pagán y col. (2006).

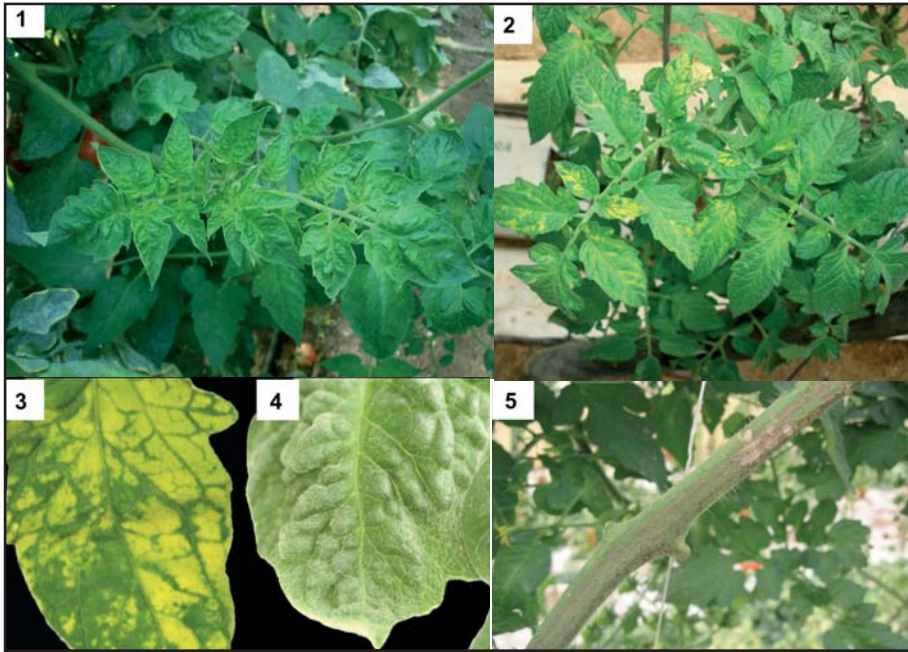
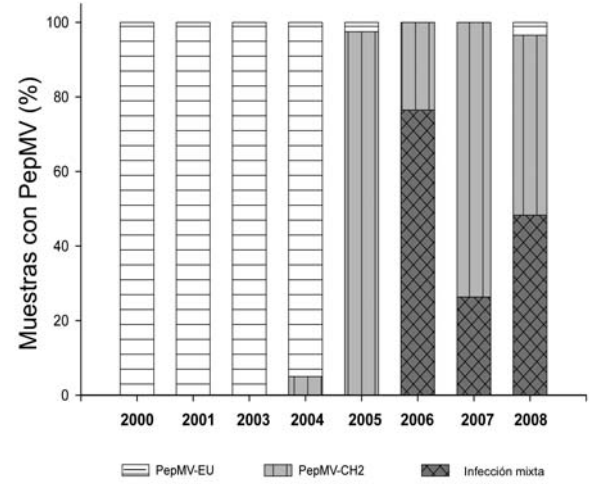


Figura 4. Síntomas inducidos por PepMV en hoja. 4.1. Abullonados y filiformismos. 4.2. y 4.3. Mosaicos amarillos. 4.4. Abullonados. 4.5. Necrosis en tallos.



Figura 5. Síntomas inducidos por PepMV en frutos. Mosaicos y maduración irregular.

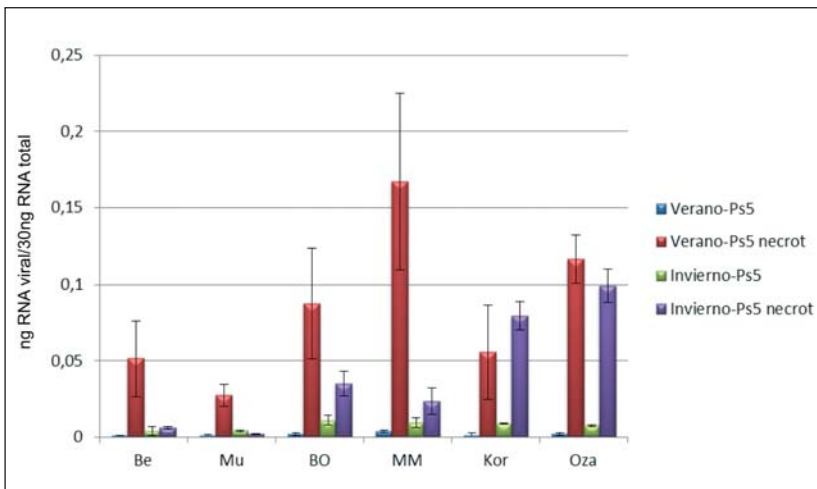
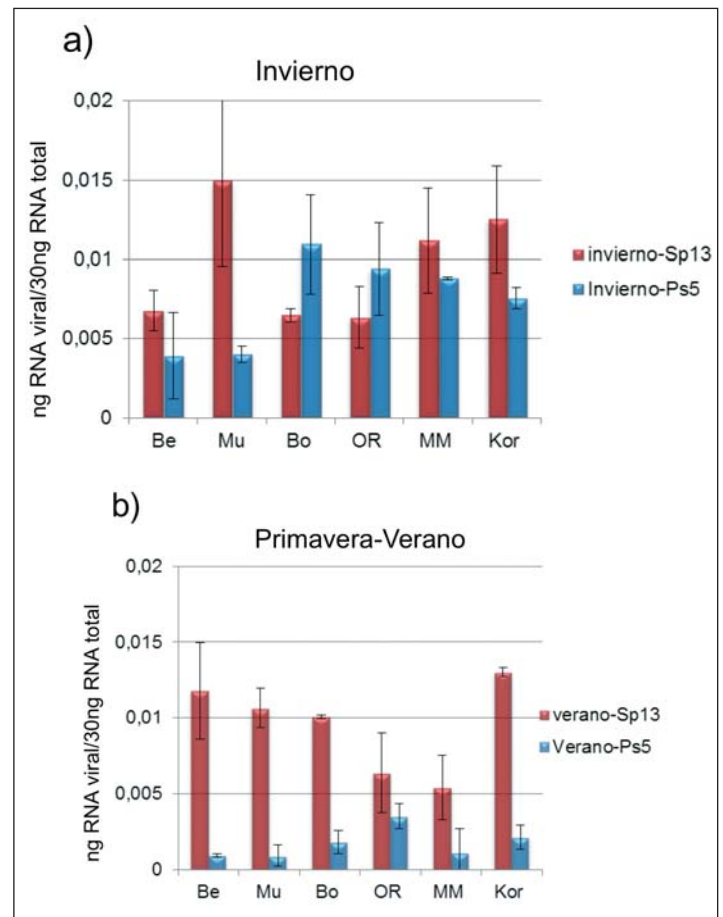


Figura 6. Acumulación de dos aislados de PepMV de tipo chileno, Ps5 y Ps5 necrot (con capacidad de inducir necrosis) en diferentes variedades de tomate bajo condiciones de verano e invierno. Variedades de tomate utilizadas: Betalux (Be), Muchamiel (Mu), Boludo (Bo), Malinowy Ozarowski (Oza), Moneymaker (MM) y Korneser (Kor). La medida de la acumulación viral se realizó mediante RT-qPCR.

Figura 7. Acumulación de PepMV tipo Europeo (Sp13) y tipo Chileno (Ps5) en diferentes variedades de tomate bajo condiciones de invierno (a) y de verano (b). Variedades de tomate utilizadas: Betalux (Be), Muchamiel (Mu), Boludo (Bo), Malinowy Ozarowski (OR), Moneymaker (MM) y Korneser (Kor). La medida de la acumulación viral se realizó mediante RT-qPCR.



UNA DIVERSIDAD DE FACTORES PARECEN AFECTAR A LA EXPRESIÓN DE SÍNTOMAS INDUCIDOS POR PepMV

Las condiciones ambientales, luz y temperatura, parecen afectar a la expresión de síntomas causados por PepMV, aunque el número de trabajos experimentales que han abordado este tema de forma sistemática es muy limitado. Se sabe que los síntomas relacionados con mosaicos se atenúan cuando la temperatura alcanza valores por encima de los 25 °C y en algunos casos desaparecen por completo (Soler y col., 2002). Por otra parte, en diversos estudios y trabajos de campo se han encontrado diferencias en la respuesta a la infección por PepMV de distintas variedades de tomate, en términos de reducción de la producción, crecimiento y calidad de fruto, dependiendo del aislado o combinación de aislados de PepMV que infecten las plantas. Los aislados de tipo chileno y norteamericano están descritos como más agresivos mientras que los de tipo europeo o peruano tienden a provocar síntomas ocasionales y más suaves tanto en hoja como en fruto. Por otro lado, la sintomatología causada por estos aislados cambia cuando se encuentran en infecciones mixtas, pudiendo aumentar o reducir la gravedad de la enfermedad dependiendo de la combinación de aislados presente (Gómez y col., 2009; Schenk y col., 2010). Existe gran controversia en este aspecto pues además un mismo aislado puede producir respuestas diferentes según la variedad de tomate que infecte. Fakrho y colaboradores (2011) estudiaron la respuesta a la inoculación de 25 variedades de tomate frente a dos aislados de PepMV con una alta homología genética (tipo europeo y tipo peruano). Encontraron respuestas muy variables en cuanto a expresión de síntomas y pérdidas de producción pero no encontraron una correlación clara con ninguno de los aislados. Sin embargo, bajo sus condiciones de trabajo, observaron una correlación negativa entre la concentración del aislado peruano y el crecimiento de las plantas infectadas, sin encontrar dicha correlación para el aislado europeo.

UN EXPERIMENTO PARA RELACIONAR LA GRAVEDAD DE SÍNTOMAS Y LA ACUMULACIÓN DE VIRUS CON LAS CONDICIONES AMBIENTALES, LAS CEPAS DE VIRUS Y LAS VARIETADES DE TOMATE

Recientemente nuestro grupo de investigación ha realizado un trabajo con el objetivo de estudiar cómo afectan las condiciones ambientales, la genética del virus y la variedad de tomate a la acumulación y síntomas causados por PepMV. Para analizar cómo afectan las condiciones ambientales, el experimento se realizó en condiciones parecidas a las de primavera-verano (26-28°C día, 18-20°C noche, 14,5 h luz) y a las de invierno (22-25°C día, 15-16°C noche, 12h luz) en el interior de un invernadero de condiciones controladas. Para analizar cómo afecta la genética del virus y la variedad de tomate se utilizaron tres aislados de PepMV, uno de tipo chileno (Ps5, descrito como más agresivo por provocar síntomas graves en hoja y frutos), otro de tipo europeo (Sp13, que provoca síntomas suaves ocasionalmente en hoja y en fruto) y otro aislado de tipo chileno (Ps5 necrot) diferente del anterior por poseer la capacidad de inducir necrosis. Se inocularon seis variedades de tomate (españolas: Muchamiel, Moneymaker, Boludo; y polacas: Betalux, Korneser y Malinowy Ozarowsky). Para cada caso, se cuantificó la acumulación viral y se anotaron los síntomas.

La influencia de los diferentes factores sobre la gravedad de síntomas se observó claramente al realizar comparaciones con el aislado que produce necrosis, Ps5 necrot (Figura 6). Condiciones similares a las de primavera-verano, con temperaturas suaves, favorecieron el desarrollo de la necrosis, mientras que en las condiciones de invierno la aparición y desarrollo de necrosis fue mucho menor, llegando a no aparecer en algunas de las variedades. La medida de la acumulación de virus mostró que el aislado necrótico se acumula casi 10 veces más que el no necrótico en la mayoría de las variedades utilizadas. Cuando las condiciones ambientales modulaban la acumulación del aislado necrótico, también se observaba una modulación de los síntomas de necrosis. Este resultado sugiere que existe una correlación positiva entre la capacidad de inducir síntomas

de necrosis y los niveles de acumulación de PepMV-Ps5 necrot (Figura 6). Sólo el aislado chileno necrótico indujo síntomas de necrosis, a pesar de que la homología entre los aislados de tipo chileno utilizados, necrótico y no necrótico, es del 99,9%. Por tanto, esto indica que la capacidad de acumularse e inducir síntomas más o menos graves es una característica intrínseca de aislado, y puede ser independiente del grupo al que pertenezca.

Cabe destacar que hubo variedades en las que el virus se acumulaba a bajos niveles, y sin embargo los síntomas eran más acusados que para otras variedades. Por ejemplo, Muchamiel fue una de las variedades que mostró síntomas de necrosis más graves, bajo las diferentes condiciones estudiadas, y sin embargo los niveles de acumulación del aislado necrótico fueron mucho menores que en otras variedades, como para la variedad polaca, Malinowy Ozarowsky. Malinowy Ozarowsky mostró síntomas muy leves de necrosis o ausencia de ellos y, en cambio, los niveles de acumulación de virus fueron muy altos. Muchamiel sería un caso de alta susceptibilidad y Malinowy Ozarowsky de tolerancia a este aislado en concreto. Estos datos indican que el genotipo del tomate puede influir drásticamente en la aparición de síntomas.

En general, los resultados obtenidos mostraron que las condiciones ambientales afectan directamente a la acumulación de PepMV, aunque no por igual a todos los aislados. Notablemente, en condiciones de primavera-verano, cuando las temperaturas se encuentran por encima de 26°C, la acumulación del aislado de tipo chileno (Ps5) se redujo significativamente en todas las variedades estudiadas (Figura 7 a y b). En cambio, las condiciones ambientales no afectaron tanto a los niveles de acumulación del aislado europeo (Sp13). Si asumimos que a mayor acumulación de virus mayor gravedad de síntomas, estos resultados podrían ser coherentes con las observaciones realizadas en campo en la zona del sureste español. Los aislados de tipo chileno, generalmente más agresivos, de algún modo se ven afectados por las altas temperaturas y días largos de manera que sus niveles de acumulación se reducen hasta un punto que parecen

no ser tan perjudiciales para las plantas infectadas. Por otro lado, el hecho de que los niveles de acumulación de ambos aislados tiendan a ser altos en condiciones de invierno (menos horas de luz y bajas temperaturas) podría explicar que esta enfermedad sea especialmente grave durante este periodo.

Todos juntos, estos resultados indican que la aparición de síntomas en tomate depende en gran medida del aislado que infecte la planta, los niveles de acumulación que alcance (modulados por las condiciones ambientales), y la susceptibilidad de la variedad de tomate.

CONCLUSIONES

Las observaciones de campo así como los datos experimentales indican claramente que existe una influencia de las condiciones ambientales en la expresión de los síntomas que induce PepMV. Por otra parte, los datos experimentales sugieren que la gravedad de síntomas esté asociada con los niveles de acumulación de virus en la planta infectadas: A más virus, síntomas más graves; esto resulta particularmente evidente en nuestros experimentos para determinar las causas de inducción de necrosis por PepMV. Aparte de la influencia ambiental, existe un determinismo genético en la gravedad de síntomas: Existen cepas de PepMV que consistentemente inducen síntomas más graves que otras, y también hay variedades de tomate que parecen más proclives a mostrar síntomas graves de PepMV. ¿Podemos usar de alguna manera esta información para gestionar la enfermedad inducida por PepMV? Desde un punto de vista aplicado se pueden hacer algunas consideraciones importantes: En primer lugar, si las condiciones son desfavorables para el virus, las plantas pueden estar infectadas pero no manifestar síntomas; esto puede tener una repercusión muy grave en la facilidad con que la enfermedad se transmite de una manera silenciosa. En segundo lugar, conviene estar atento a la entrada y establecimiento de cepas de virus que sean más agresivas. En tercer lugar, conviene tener una idea de la susceptibilidad de las variedades a PepMV, pues si se planta una variedad particularmente susceptible de forma que la cosecha se realice en un momento favorable para el virus, esto puede tener consecuencias

desastrosas para el productor. Por último, cabe mencionar que todas estas observaciones dejan resquicios al optimismo: Por un lado, quizá sea posible identificar cepas de PepMV atenuadas que sean útiles en el control de la enfermedad mediante protección cruzada, aunque esas cepas habrá que testarlas en una diversidad de condiciones y variedades de tomate. En segundo lugar, si existen variedades de tomate más o menos susceptibles, cabe pensar que se puede hacer mejora genética de las variedades para por lo menos obtener alguna que sea tolerante a la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Elorrieta, M. A., Sánchez del Coso, E., Gómez-García, V. (2011). Incidencia y Control del Virus del mosaico del Pepino dulce - PepMV- en Almería. Libro de los Seminarios Técnicos Agronómicos Campaña 08/09". Estación Experimental de la Fundación Cajamar, Almería, España.
- Fakhro, A., Von Barga, S., Bandte, M., Buttner, C. (2010). Pepino mosaic virus, a first report of a virus infecting tomato in Syria. *Phytopathologia Mediterranea* **49**, 99-101.
- Fakhro, A., von Barga, S., Bandte, M., Büttner, C., Franken, P., Schwarz, D. (2011). Susceptibility of different plant species and tomato cultivars to two isolates of Pepino mosaic virus. *European Journal of Plant Pathology* **129**, 579-590.
- Gómez, P., Sempere, R. N., Aranda, M. A., Elena, S. F. (2012a). Phylodynamics of *Pepino mosaic virus* in Spain. *European Journal of Plant Pathology* **134**, pp 445-449
- Gómez, P., Sempere, R. N., Elena, S. F., Aranda, M. A. (2009). Mixed Infections of Pepino Mosaic Virus Strains Modulate the Evolutionary Dynamics of this Emergent Virus. *Journal of Virology* **83**, 12378-12387.
- Gómez, P., Sempere, R. N., Aranda, M. A. (2012b). Pepino Mosaic Virus and Tomato Torrado Virus: Two Emerging Viruses Affecting Tomato Crops in the Mediterranean Basin. *Advances in Virus Research*. L. Gad and L. Hervé, Academic Press. Chapter 14 **Volume 84**: 505-532.
- Hanssen, I. M., Paeleman, A., Vandewoestijne, E., Van Bergen, L., Bragard, C., Lievens, B., Vanachter, A. C. R. C., Thomma, B. P. H. J. (2009). Pepino mosaic virus isolates and differential symptomatology in tomato. *Plant Pathology* **58**, 450-460.
- Hanssen, I. M., Thomma, B. (2010). Pepino mosaic virus: a successful pathogen that rapidly evolved from emerging to endemic in tomato crops. *Molecular Plant Pathology* **11**, 179-189.
- Hasiów-Jaroszewska, B., N. Borodynko (2012). Characterization of the necrosis determinant of the European genotype of pepino mosaic virus by site-specific mutagenesis of an infectious cDNA clone. *Archives of Virology* **157**(2): 337-341.
- Hasiów-Jaroszewska, B., Borodynko, N., Jackowiak, P., Figlerowicz, M., Pospieszny, H. (2010). Pepino Mosaic Virus - A Pathogen of Tomato Crops in Poland: Biology, Evolution and Diagnostics. *Journal of Plant Protection Research* **50**, 470-476.
- Hasiów-Jaroszewska, B., H. Pospieszny, N. Borodynko (2009). New necrotic isolates of pepino mosaic virus representing the Ch2 genotype. *Journal of Phytopathology* **157**(7-8): 494-496.

- Jones, R. A. C., Koenig, R., Lesemann, D. E. (1980). Pepino mosaic virus, a new potyvirus from pepino (*Solanum muricatum*). *Annals of Applied Biology* **94**, 61-68.
- Jordá, C., Lázaro, A., Font, I., Lacasa, A., Guerrero, M., Cano, A. (2000). Nueva enfermedad en el tomate. *Phytoma* **119**, 23-28.
- Ling, K. S. (2007). Molecular characterization of two Pepino mosaic virus variants from imported tomato seed reveals high levels of sequence identity between Chilean and US isolates. *Virus Genes* **34**, 1-8.
- López, C., Soler, S., Nuez, F. (2005). Comparison of the complete sequences of three different isolates of Pepino mosaic virus: Size variability of the TGBp3 protein between tomato and *L. peruvianum* isolates. *Archives of Virology* **150**, 619-627.
- Maroon-Lango, C. J., Guaragna, M. A., Jordan, R. L., Hammond, J., Bandla, M. y Marquardt, S. K. (2005). Two unique US isolates of Pepino mosaic virus from a limited source of pooled tomato tissue are distinct from a third (European-like) US isolate. *Archives of Virology* **150**, 1187-1201.
- Mumford, R. A., Metcalfe, E. J. (2001). The partial sequencing of the genomic RNA of a UK isolate of Pepino mosaic virus and the comparison of the coat protein sequence with other isolates from Europe and Peru. *Archives of Virology* **146**, 2455-2460.
- Pagán, I., Córdoba-Sellés, M. D., Martínez-Priego, L., Fraile, A., Malpica, J. M., Jorda, C., García-Arenal, F. (2006). Genetic structure of the population of Pepino mosaic virus infecting tomato crops in Spain. *Phytopathology* **96**, 274-279.
- Salomone, A., Roggero, P. (2002). Host range, seed transmission and detection by ELISA and lateral flow of an Italian isolate of Pepino mosaic virus. *Journal of Plant Pathology* **84**, 65-68.
- Schenk, M. F., Hamelink, R., van der Vlugt, R. A. A., Vermunt, A. M. W., Kaarsenmaker, R. C., Stijger, I. (2010). The use of attenuated isolates of Pepino mosaic virus for cross-protection. *European Journal of Plant Pathology* **127**, 249-261.
- Soler-Aleixandre, S., Lopez, C., Cebolla-Cornejo, J., Nuez, F. (2007). Sources of resistance to Pepino mosaic virus (PepMV) in tomato. *Hortscience* **42**, 40-45.
- Soler, S., Cebolla-Cornejo, J., Prohens, J., Nuez, F. (2000). El Pepino mosaic virus (PepMV), una nueva amenaza para el cultivo del tomate. II. *Vida Rural* **119**, 48-52.
- Soler, S., Prohens, J., Ez, M. J., Nuez, F. (2002). Natural Occurrence of Pepino mosaic virus in *Lycopersicon* Species in Central and Southern Peru. *Journal of Phytopathology* **150**, 49-53.
- Spence, N. J., Basham, J., Mumford, R. A., Hayman, G., Edmondson, R., Jones, D. R. (2006). Effect of Pepino mosaic virus on the yield and quality of glasshouse-grown tomatoes in the UK. *Plant Pathology* **55**, 595-606.
- van der Vlugt, R. A., Stijger, C. M., Verhoeven, J. T., Lesemann, D. E. (2000). First Report of Pepino Mosaic Virus on Tomato. *Plant Disease* **84**, 103-103.
- Verhoeven, J. T., van der Vlugt, R. A., Roenhorst, J. W. (2003). High Similarity Between Tomato Isolates of Pepino mosaic; Virus Suggests a Common Origin. *European Journal of Plant Pathology* **109**, 419-425.