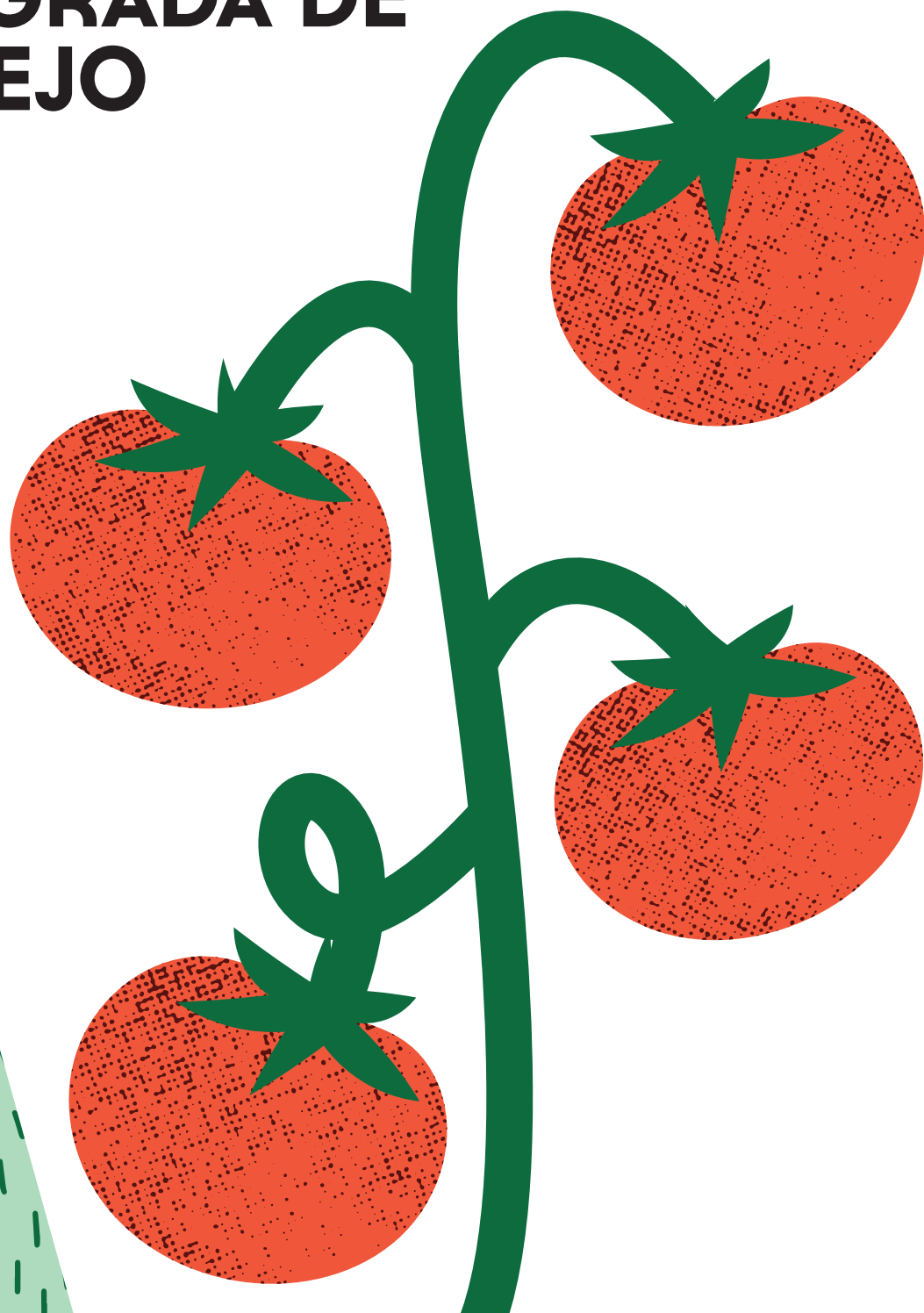


**EL VIRUS RUGOSO  
DEL TOMATE:**

**BASES PARA  
UNA ESTRATEGIA  
INTEGRADA DE  
MANEJO**



---

# **EL VIRUS RUGOSO DEL TOMATE: BASES PARA UNA ESTRATEGIA INTEGRADA DE MANEJO**

**Antonio Monserrat Delgado**

**Carmen M<sup>a</sup> Lacasa Martínez**

**Victoriano Martínez Alarcón**

**M<sup>a</sup>. Carmen Martínez Lluch**

**Modesto Del Pino Pérez**

**M<sup>a</sup> Del Mar Guerrero Díaz**

**Sandra Alcázar Carrasco**

**Jerónimo Torres Corcuera**

**Daniel Soler Cárceles**

---



Las epidemias de la última virosis que se ha instalado en los tomates de la Región de Murcia, nos lleva a rememorar situaciones superadas por el sector productor en tiempos pasados. Nuevas virosis, nuevas plagas se han ido sucediendo en la larga historia del cultivo en tierras murcianas, dejando huellas en el ánimo de los agricultores y en la fisionomía de las comarcas productoras. Virosis, con las que se convive en la actualidad recluyeron el cultivo a espacios protegidos por plásticos o mallas, dejando atrás laderas y hondonadas jalonadas por parcelas verdi-rojas que conocí, en los años setenta del pasado siglo, cuando llegué a las comarcas de Mazarrón y Águilas.

Enumerar las plagas y enfermedades que se han introducido en estas comarcas en los últimos 40 años queda para los catálogos históricos, pues en la disposición de productores y técnicos que les asisten está el superar el último problema que se presenta, coexistiendo con todo lo anterior. No hay cambio de mentalidad para abordar un nuevo reto, puesto que los tomateros se han curtido en la superación de dificultades de esta naturaleza y la problemática ocasionada por el virus rugoso está en vías de solución. Como siempre es cuestión de esfuerzo, dedicación y no pocas incertidumbres y sinsabores.

El documento monográfico, al que preceden estas letras, se muestra como un compendio de informaciones sobre la virosis, acrisoladas por la visión de la realidad del campo, allí donde las teorías y especulaciones son evaluadas y contrastadas por las prestaciones que proporcionan.

El equipo de Protección de Cultivos del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Medioambiental (IMIDA) ha planteado experimentos en condiciones de campo y laboratorio para tratar de conocer la virosis en su hábitat y en sus condiciones, buscando la forma de paliar sus efectos de forma eficiente. Los resultados, que de forma preliminar y sintética forman el

grueso del documento, esbozan soluciones concebidas para ser aplicadas en el contexto de la fitosanidad del cultivo y ajustan su manejo para mantener equilibrios que eran estables, antes de la llegada del virus. Es decir, sobre las bases de conducta del cultivo que costosamente se han consolidado, se proponen prácticas adicionales o ajustes conducentes a integrar las soluciones más viables en las estrategias integradas vigentes.

El lector podrá encontrar en el documento información sobre aspectos epidemiológicos - como la infección de las plantas, la dispersión del virus, los hospedantes alternativos, persistencia del virus en el medio, etc.- que son fundamentales para entender y encuadrar las medidas de control a poner en práctica. Estas prácticas se refieren a: medidas de higiene en las parcelas y durante el proceso de producción de las plantas; medidas para reducir la infectividad del medio en el que se desarrolla el cultivo (suelo, restos vegetales, etc.); el comportamiento de las resistencias incorporadas a las nuevas variedades y las prestaciones fitosanitarias y agronómicas que proporcionan los nuevos materiales. Sobre todos estos aspectos se vierten opiniones, consejos y recomendaciones que si bien son incipientes, son la orientación del camino que conduzca a un futuro próximo esperanzador.

En el ánimo de realidad, en el documento se transluce la inquietud por transferir los conocimientos tan pronto se tienen, para que sirvan de apoyo, a modo de manual o guía práctica, a las personas que se enfrentan cotidianamente con el problema, suscitado por una más de las muchas introducciones insidiosas, que cultivos tan dinámicos como el tomate sufren con demasiada frecuencia.

**Alfredo Lacasa Plasencia**  
**16 de febrero de 2024**

---

# **INTRODUCCIÓN GENERAL A LA PROBLEMÁTICA DE VIRUS EN TOMATE**

Las introducciones de virosis han venido siendo una de las mayores pesadillas de los productores de tomate. Si a finales de los ochenta, el virus del bronceado del tomate TSWV causó estragos, en los noventa fueron el de la cuchara TYLCV y el del mosaico del pepino dulce PepMV y sus diferentes variantes. Hacia principios de los dos mil, el virus del torrado del tomate ToTV fue tan llamativo como fugaz, mientras otros, como el virus de la clorosis del tomate ToCV y el virus de los amarillos infecciosos del tomate TICTV han generado menos alarma.

Desde los años 2012-2013, se han observado problemas muy significativos afectando a la coloración de frutos en distintas plantaciones, habitualmente atribuidas a condiciones o razas especialmente agresivas de PepMV. Sin embargo, a raíz de la reciente descripción del virus de la mancha del fruto del tomate ToFBV, se han generado dudas de si realmente podría haber estado implicado este virus, que en esos momentos no se podía identificar.

En 2021 se detecta en la Región de Murcia el virus rugoso del tomate ToBRFV, que hace saltar de nuevo todas las alarmas, al constatar su capacidad de expansión y potencial destructivo en las plantaciones. Junto a estos virus "principales", se han ido detectando otros de menor relevancia en la Región, incluso algunos cuya presencia no suele generar daños, salvo que se den determinadas condiciones de estrés o infecciones mixtas con otros patógenos.

Tras las graves consecuencias de la introducción de cada nuevo virus suele haber un periodo de adaptación, en el que se van introduciendo herramientas de manejo que tienden a mitigar sus consecuencias, como son las barreras físicas, medidas de higiene, manejo de posibles vectores o la introducción de variedades con resistencias, que ayudan a convivir con ellos. El caso del virus rugoso no debería ser una excepción. No obstante, otros factores pueden compli-

car el escenario, como las situaciones, cada vez más frecuentes e intensas, de estrés en las plantaciones (en especial por periodos prolongados con temperaturas excepcionalmente elevadas). Estas condiciones suelen acentuar los síntomas, así como que se remonten las resistencias introducidas en algunas variedades, que llegan a comportarse como sensibles.

A estos factores de estrés hay que sumar la acumulación de diferentes virus en algunas zonas de producción, lo que facilita que haya infecciones múltiples. En estas coinfecciones pueden intervenir incluso virus crípticos, que por sí solos no generan síntomas, pero que unidos a otros multiplican los daños. De hecho, en recientes prospecciones realizadas en plantas con problemas del virus rugoso ToBRFV es habitual detectarlo en infecciones mixtas con PepMV, ToCV, ToFBV y, en menor medida, ToMMV, TYLCV, PVY, TMV, ToMV o CMV.

En ocasiones, plantas con síntomas en frutos muy similares a los provocados por ToBRFV han dado negativas a este virus, mientras se ha detectado la presencia de ToFBV y PepMV, lo que incrementa confusión al problema.

Si bien las variedades con resistencias que se han ido desarrollando frente a diferentes virus, y en la actualidad al virus rugoso ToBRFV, representan herramientas muy valiosas para los productores, *per se* no resuelven todos los problemas al haber condiciones (excesiva presión de inóculo, estrés o infecciones mixtas) en las que no van a ser capaces de evitar los daños.

Por todo ello, el complejo de virus que pueden afectar al tomate, al que se ha sumado el del rugoso, requiere un planteamiento integral, basado en el conocimiento de sus características, sus mecanismos de dispersión y conservación, así como de las posibles medidas de prevención que pueden adoptarse.



## ALGUNAS DE LAS VIROSIS DEL TOMATE

TSWV



TYLCV



PepMV



TBSV



ToTV



ToCV

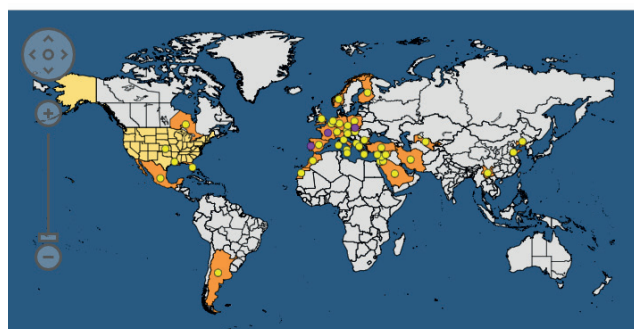




## EL VIRUS RUGOSO DEL TOMATE TOBRFV (VIRUS PARDO Y RUGOSO DEL TOMATE)

El virus rugoso ToBRFV fue descubierto hace muy pocos años, en 2014 en Israel, y se ha ido extendiendo rápidamente por diversas zonas productoras de tomate de todo el mundo, causando importantes daños a las plantaciones (la Figura 1 recoge su distribución en febrero de 2024). En la Región de Murcia, la primera detección data de agosto de 2021, para convertirse en la actualidad en la mayor preocupación del cultivo. Previamente, en 2019, se había confirmado el primer positivo en España, en la provincia de Almería.

Distribución mundial de ToBRFV (EPPO, 2024)

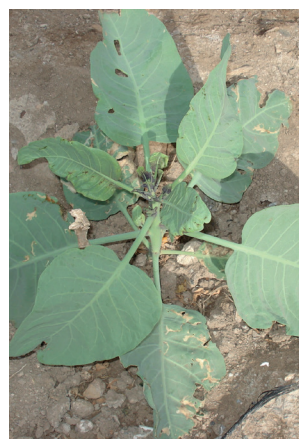


ToBRFV es un tobamovirus con un genoma de ARN que puede transmitirse mecánicamente y también por semillas. Es un virus que es muy estable y resistente, capaz de conservar su capacidad infectiva durante semanas, meses o años, según superficies o sustratos en los que se encuentra, y resistir técnicas de desinfección que pueden resultar muy eficaces sobre otros virus, como la solarización. Además, dispone de numerosos hospedantes naturales, incluidas hierbas muy habituales, sobre los que puede perpetuarse en las zonas que coloniza.

Algunas hierbas potencialmente hospedantes del virus rugoso



*Sonchus oleraceus*



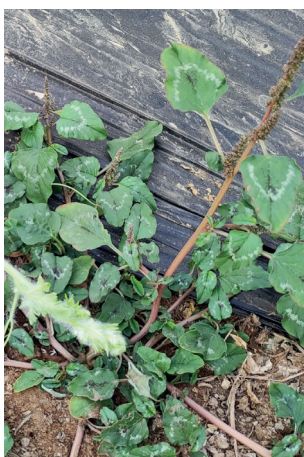
*Nicotiana glauca*



*Erigerum sp.*



*Portulaca oleracea*



*Amaranthus sp.*



*Chenopodium murale*





*Convolvulus arvensis*



*Datura stramonium*



*Solanum nigrum*

A diferencia del pimiento, en donde la incorporación de genes de resistencia frente a otros tobamovirus suele protegerlo también contra el rugoso, en tomate las variedades con resistencias frente a otros tobamovirus, como TMV y ToMV, resultan sensibles al virus rugoso.

En la actualidad, las empresas de semillas están poniendo a disposición del sector variedades con diferentes tipos de resistencia frente a rugoso, cuyo comportamiento puede estar muy condicionado por diversos factores, como son la presión del virus en la parcela, las condiciones ambientales o la afección por otros patógenos.

Todo ello nos indica que, cuando el ToBRFV

llega a una zona, difícilmente se va a poder eliminar de ella, por lo que habrá que aprender a convivir con su presencia, y la de otros virus. Un buen conocimiento del virus, de los factores que determinan los daños, de las medidas de prevención que pueden adoptarse en cada momento, de las características del material vegetal a utilizar y sus posibles resistencias, será básico para minimizar los riesgos de esta y otras fitopatologías.

El objetivo de esta monografía es, precisamente, remarcar los conocimientos y aspectos más relevantes que deben tener en cuenta los técnicos y productores, para minimizar el impacto del virus rugoso. Para ello, junto a las referencias científicas publicadas, vamos a incluir observaciones y datos propios, derivados de los trabajos de investigación desarrollados por el Equipo

Síntomas en pimiento en una variedad sin resistencias a tobamovirus

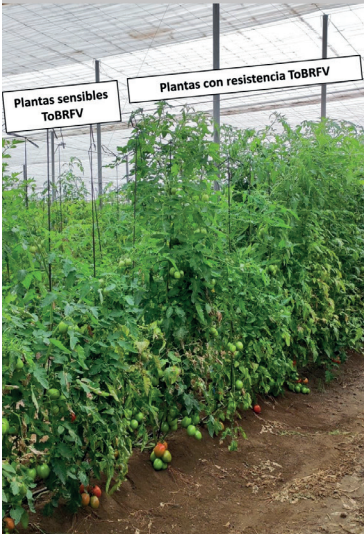




Figuras 2 a 11. Síntomas relacionados con positivos a ToBRFV

**SÍNTOMAS EN PLANTA:**

**P-1: Falta desarrollo**



**P-2: Marchitez**



**P-3: Necrosis**



**SÍNTOMAS EN PLANTA: P-3: Necrosis**



**SÍNTOMAS EN PLANTA:**

**P-4: Abortos flores / frutos**





**SÍNTOMAS EN HOJAS:**

**H-1: Clorosis**



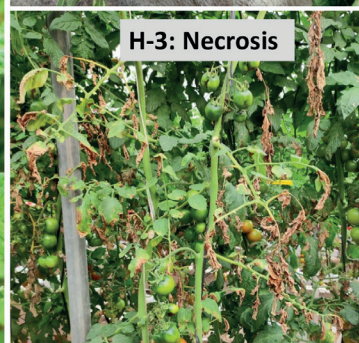
**H-2: Verrugosidades**



**H-4: Filimorfismo**



**H-3: Necrosis**



**SÍNTOMAS EN CÁLIZ:**

**C-1: Coloraciones claras centrales**



**C2: Necrosis apicales**



**SÍNTOMAS EN FRUTOS VERDES:**

**F-1: Deformaciones**



**F-2: "Marmoleo" Coloración irregular**





**SÍNTOMAS EN FRUTOS VERDES:**

**F-3: Cicatrices**



**SÍNTOMAS EN FRUTOS VERDES:**

**F-4: Necrosis, manchas oscuras**



**SÍNTOMAS EN FRUTOS VERDES:**

**F-5: Frutos abiertos**





**SÍNTOMAS EN FRUTOS ROJOS:****F-6: Coloración irregular****F-7: Manchas necróticas**

de Protección de Cultivos del IMIDA, junto a las colaboraciones de otros organismos de investigación y de técnicos de empresas de producción. Estas aportaciones deben ayudar a entender la importancia relativa de cada una de las actuaciones y medidas que pueden integrarse en el manejo del virus rugoso, en función de las características de cada parcela y empresa. Así, las prioridades y viabilidad de algunas de las actuaciones pueden ser sensiblemente diferentes en una parcela de invernadero que en una de malla o al aire libre, o bien en una pequeña explotación familiar frente a empresas con numerosos trabajadores que se desplazan entre diferentes parcelas de cultivo.

### SÍNTOMAS Y DAÑOS RELACIONADOS CON EL VIRUS RUGOSO

En la web de la EPPO sobre ToBRFV, se muestra una enorme diversidad de síntomas que pueden relacionarse con este virus, entre los que destacan mosaicos y abullosados o rugosidades muy patentes en hojas y brotes jóvenes, así como frutos con coloraciones irregulares, manchas amarillas y marrones y deformaciones. Junto a estos,

se describen otros que incluyen marchitez y desecaciones, reducción del crecimiento de plantas y frutos, necrosis en sépalos y frutos jóvenes, aborto de frutos, necrosis en tallos y hojas, filimorfismo de hojas o rajado de frutos.

En las composiciones de fotos que se recogen como Figuras 2 a 11, se recogen los síntomas que se han ido detectando en las prospecciones realizadas en Murcia, en plantas positivas a ToBRFV, teniendo en cuenta que en la mayoría de esas plantas se han detectado infecciones mixtas con otros virus, como PepMV, ToCV, ToFBV, ToMV o TYLCV. Estos síntomas están ordenados con letras y números que nos permiten estandarizar los datos recogidos de las plantaciones en campo en esas prospecciones.

Cuando los síntomas en brotes son muy patentes, lo habitual es encontrar también algunas de las alteraciones descritas en frutos. No obstante, se han detectado situaciones con determinadas variedades sensibles, positivas a rugoso, donde los síntomas se limitan solo a las hojas de los brotes, sin repercusión aparente en la calidad

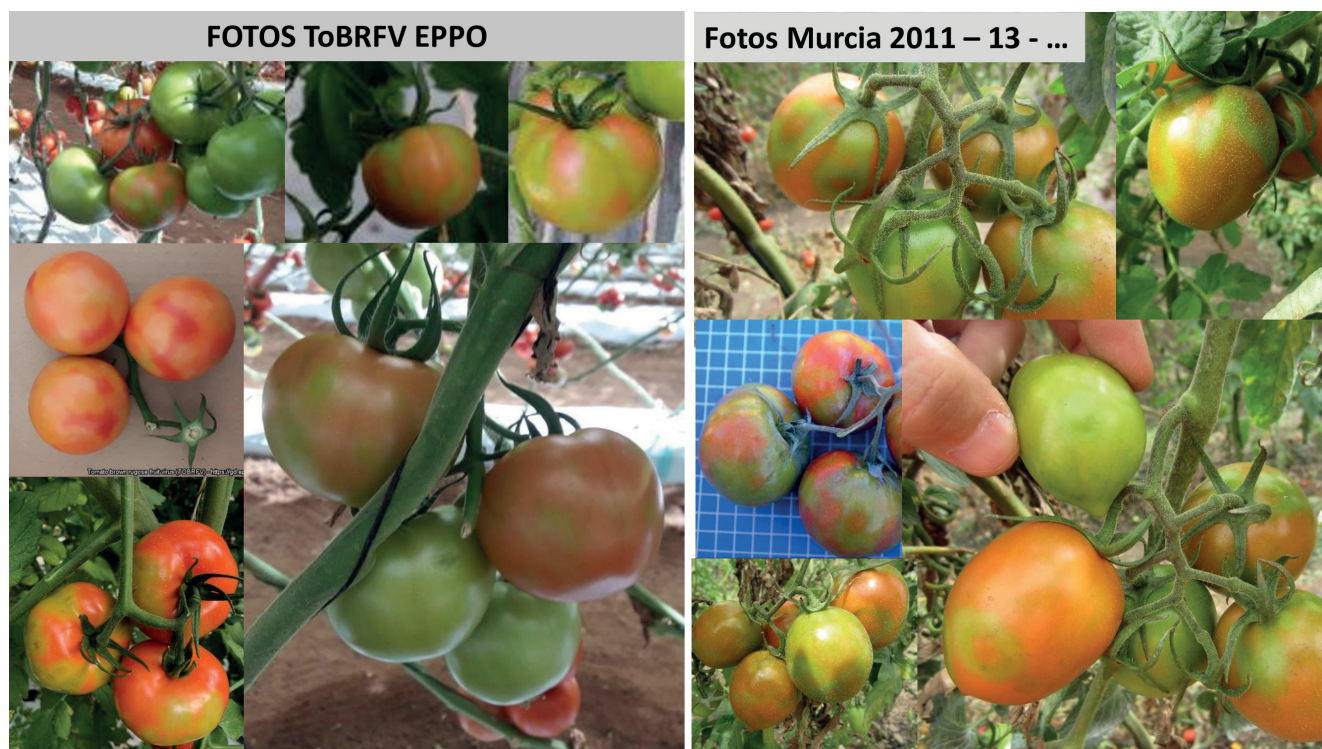
y productividad (Foto 17). La situación contraria, manchas o alteraciones en frutos sin síntomas aparentes en el resto de la planta, se ha detectado en variedades con resistencias a rugoso, habitualmente limitada a unos pocos frutos (Foto 18).

La Figura 12 recoge síntomas en frutos similares a los descritos para ToBRFV, que se corresponden a problemas detectados ya en 2013 y años posteriores, cuyo origen no pudo ser aclarado, aunque se sabe que no eran de este virus. Quizá, como una hipótesis, se podría pensar que alguno de esos síntomas podría haber estado causado ya por ToFBV o, bajo determinadas condiciones, por PePMV.

Fotos 17 y 18



Figura 12. Fotos rugoso EPPO y fotos de problemas en Murcia anteriores a la introducción del rugoso.







se han detectado infecciones por rugoso cuando no se han aplicado daños mecánicos, en contraposición al 100% de transmisión obtenida cuando se provocan daños físicos en la superficie de las hojas de la planta. Asimismo, observaciones de campo sobre la evolución de las infecciones en plantaciones de tomate con dobles líneas de plantas, con un patrón de distribución que sigue las labores entre plantas seguidas y no el de las plantas que se están rozando con la línea vecina, apuntan a esa misma conclusión.

Fotos 19, 20 y 21. Experiencias gotas extracto con el virus sin daños y con daños mecánicos.



## • TRANSMISIÓN POR ABEJORROS

Para determinar la eficiencia en la posible transferencia del virus por abejorros, se realizaron tres experimentos. En el primero de ellos, se trasladaron a las instalaciones del IMIDA varias colmenas de abejorros procedentes de parcelas comerciales muy afectadas por ToBRFV y que habían estado polinizando el cultivo durante cuatro o cinco semanas. Los abejorros se extrajeron cuidadosamente de las colmenas y se individualizaron durante dos horas sobre plantas sanas de tomate sensible. Posteriormente, tras retirar los abejorros, las plantas se mantuvieron en condiciones controladas y a las tres semanas se realizaron controles visuales de sintomatología y un test ELISA para determinar la presencia del virus. Se utilizaron tres colmenas diferentes, procedentes de tres plantaciones distintas, y seis repeticiones por colmena (plantas expuestas a los abejorros) a las que hay que sumar los controles negativos (sin contacto con abejorros) y positivos (plantas inoculadas mecánicamente). En las Fotos 24 a 28 se visualiza los dispositivos utilizados en estas experiencias.

Fotos 22 y 23. Además de visitar las flores, los abejorros se posan con cierta frecuencia sobre las hojas.





Fotos 24 a 28. Parcela de origen de una de las colmenas, separación de individuos, contacto con las plantas de tomate sensibles de referencia y mantenimiento de estas en cámara hasta realizar los test de infecciones.



En un segundo experimento, se utilizaron abejorros procedentes de una colmena nueva (suministrada directamente por una empresa productora) que se pusieron individualmente en contacto con grupos de diez flores y con folíolos individuales, según tesis, en ambos casos tomados de plantas de tomate positivas a rugoso y con importantes síntomas del virus. Transcurrido el tiempo de contacto, unos 5-6 minutos, se traspasa cada abejorro a una planta sana en maceta, haciéndolo entrar en contacto con uno de sus folíolos durante 5-6 minutos, para lo que se utiliza una "caja-pinza" (Foto 29). Una vez retirados los abejorros, a las tres semanas se realizó un control visual de síntomas y un test ELISA para determinar la posible presencia del virus en las plantas. Igual que en el caso anterior, se realizaron diferentes repeticiones y se utilizaron controles negativos y positivos. En las Fotos 29 a 32 se visualiza los dispositivos utilizados en estas experiencias.

Fotos 29 a 32. Dispositivos utilizados para garantizar el contacto de los abejorros individualmente, primero sobre folíolos o flores de plantas virosadas, para posteriormente pasarlos a plantas de referencia para testar la posible transferencia del virus



Para el tercer experimento, se utilizan macetas con plantas de tomate de referencia sensibles a rugoso, que ya han llegado a floración, y que se colocan frente a un grupo de colmenas de abejorros en parcelas comerciales muy afectadas por el virus rugoso. Tras unas tres semanas y controles visuales, las plantas son muestreadas para realizarles un ELISA para ToBRFV. Se disponen 10 repeticiones (macetas) y controles positivos (plantas inoculadas mecánicamente con extracto de otras plantas de la parcela). La experiencia se repite en dos plantaciones diferentes. Las Fotos 33 y 34 corresponden a imágenes de estas experiencias.

Fotos 33 y 34. Exposición de plantas de referencia a testar frente los abejorros, en plantaciones muy afectadas por rugoso.



Los resultados preliminares de este grupo de ensayos indican que, aunque las infecciones por abejorros son posibles (como ya está descrito en la bibliografía), su eficacia en la transmisión sería muy pequeña y apenas tendría importancia en la dispersión del virus en el interior de las plantaciones. De los ensayos anteriores, ninguna de las 30 plantas utilizadas en los experimentos con los abejorros en cámara se infectó, mientras que en campo, de las dos experiencias con diez plantas cada una, solo una de las 20 plantas colocadas frente a las colmenas dio positivo al virus (sin que podamos descartar que se infectara accidentalmen-

te por otro mecanismo). Estas conclusiones están en la misma línea que las que pueden obtenerse cuando se estudia la evolución en la distribución de plantas infectadas en algunas plantaciones, que apuntan también a que los abejorros tendrían muy poca incidencia en la dispersión de este virus.

Sin embargo, hay que considerar el riesgo que conlleva dejar colmenas de abejorros en parcelas con cultivos ya finalizados, cuyas obreras pueden desplazarse a parcelas cercanas en busca de recursos y, aunque la probabilidad de transmisión sea muy baja, esta existe y podría ser un vehículo por el que se traslada el problema de unas parcelas a otras.

Por ello, y a falta de nuevos estudios, todo apunta a que los abejorros no constituyen un riesgo significativo en la dispersión del virus rugoso en el interior de una plantación, por lo que tienen que seguir siendo utilizados como la base de la polinización en tomate. Sin embargo, sí que podría haber un riesgo entre plantaciones, por lo que parece lógico recomendar la eliminación de las colmenas de abejorros una vez finalizada la polinización de la parcela, cerrándolas para impedir que puedan migrar individuos a otras plantaciones.

#### • POSIBLE TRANSMISIÓN POR MÍRIDOS

Ante la falta de referencias sobre la capacidad de los míridos para transmitir el virus rugoso, se realizaron dos experiencias con *Nesidiocoris tenuis*.

En la primera de ellas, se recogieron ninfas y adultos de *N. tenuis* de una plantación de tomate totalmente afectada por ToBRFV que se llevaron a las instalaciones del IMIDA. Una vez allí, se introdujeron cincuenta individuos en el interior de un jaulón de madera con seis plantas sanas de tomate sensible para que se alimentasen. Tras cuatro días, los míridos se eliminaron mediante un tratamiento fitosanitario y las plantas se



dejaron en la cámara durante tres semanas, tras las cuales se realizaron los controles visuales de síntomas y los test ELISA correspondientes para determinar la presencia del virus.

Para la segunda experiencia se utilizaron adultos de *Nesidiocoris* procedentes de un insectario comercial, que se colocaron sobre dos plantas de tomate en macetas infectadas por ToBRFV. Tras unos días alimentándose de ellas, los insectos se pasaron a plantas sanas de referencia para determinar la posible transmisión del virus mediante la observación de síntomas y la realización de test ELISA a las tres semanas.

Fotos 35 a 37. Recogida de míridos de plantas virosadas y posterior exposición sobre la de referencia para testar posibles transferencias del virus.



Como sucede con los abejorros, los resultados preliminares indican que la eficacia de transmisión del virus rugoso por míridos sería muy baja, habiéndose detectado una planta infectada, de las 12 utilizadas en las experiencias, en las que se había forzado el paso de los míridos de plantas virosadas a las sanas. Además, unido a su menor movilidad entre plantas, siempre que las poblaciones no sean grandes, daría una escasa relevancia en la dispersión del virus en el interior de las plantaciones. Sin embargo, el riesgo existe y puede tener importantes consecuencias para la dispersión a otras plantaciones y persistencia del virus en algunas zonas. Hay que tener en cuenta que, cuando se retiran restos vegetales procedentes de podas o plantaciones finalizadas, si tienen altas poblaciones de míridos, puede haber migraciones masivas a otras plantaciones y zonas de vegetación con hierbas hospedantes para el virus y los míridos.

A pesar del virus rugoso, la introducción de *Nesidiocoris* y de otros artrópodos utilizados en el control biológico de plagas tan importantes como las moscas blancas o Tuta, sigue considerándose fundamental en las plantaciones de tomate, tal y como se ha hecho hasta ahora. Sin embargo deberían implementarse algunas medidas de precaución, como podría ser, en el caso de los restos de las podas, dejarlos unos días en la parcela mientras se secan y los míridos se desplazan a las plantas del propio cultivo. Para las plantaciones finalizadas, con los conocimientos actuales, las medidas no estarían tan claras y habría que esperar a comprobar los riesgos reales que generan, así como buscar alternativas para el manejo de los restos de plantaciones, que sean realmente eficaces y viables para los productores.

#### • TRANSMISIÓN POR LABORES CULTURALES

Una vez hay un "foco primario (\*)", la transmisión por las labores habituales en el cultivo, como podas, deshojados o recolecciones, se ha mostrado el método de dis-



persión más importante en las plantaciones por “contaminaciones secundarias (\*\*)”.

\* “*Focos primarios: contaminaciones primarias*”: están constituidos por la primera o primeras plantas infectadas en la plantación que no se han contaminado desde otras plantas de la parcela. Pueden haberse producido por la introducción en el trasplante de alguna planta infectada, de plantas que se contaminan en la propia parcela desde restos infectivos de la campaña anterior que permanecen en suelos, sustratos o superficies, también por operarios y sus herramientas que pueden haber adquirido el virus en otras plantaciones, desde cajas o carros de recolección y, más excepcionalmente, por alguno de los insectos mencionados, maquinaria u otros utensilios procedente de parcelas con infecciones.

\*\* “*Contaminaciones secundarias*”: por transferencia del virus desde plantas ya infectadas en la plantación, que se producirá cuando un objeto o persona que entra en contacto con estas, adquiere el virus en su superficie y después es transferido a otras plantas de la misma parcela con las que también debe entrar en contacto.

Para estudiar la eficacia con la que el virus rugoso puede dispersarse en una plantación a través de las labores habituales sobre las plantas, se realizó una experiencia en un invernadero comercial, en la que se preparó una plantación experimental de tomate sensible a ToBRFV, con las máximas garantías de que no hubiera otras contaminaciones, salvo las de las tesis a estudiar. Para ello, se cubre el suelo con un nuevo acolchado sobre el que se colocan sacos de fibra de coco y dispositivos de riego nuevos, y se trasplantan plantas de un semillero con las máximas garantías, cubriéndolas con tunelillos de agrotexil durante las semanas previas a las primeras inoculaciones. La zona experimental se delimita y se

trabaja de manera totalmente independiente y con las máximas garantías para evitar infecciones accidentales. En cada uno de los sacos, se trasplantan solo dos plantas y se establece una separación entre sacos contiguos para evitar roces entre plantas colindantes. Las perforaciones de drenaje se realizan a unos tres centímetros del suelo para evitar posible contaminaciones entre sacos por el agua que suele acumularse bajo ellos. Las parcelas elementales cuentan con líneas de 20 plantas, con una separación de unos 50 cm entre plantas.

Cinco semanas después del trasplante, con las plantas entutoradas, se realizan las primeras labores experimentales con capacidad de transmisión, consistentes en el deshojado y eliminación de brotes secundarios. En cada planta se realiza el mismo número de lesiones, eliminando tres hojas y/o brotes.

En una de las tesis, los cortes se realizan con cuchillo, en el que se marcan 2 cm para realizar siempre los cortes por la misma zona, evitando tocar la planta con los guantes u otras partes del cuchillo. En la segunda tesis la poda se realiza con la mano, con guante, utilizando los dedos índice y pulgar sobre la zona a seccionar, tocando a ambos lados del corte.

En cada parcela elemental se utiliza un mismo cuchillo o unos mismos guantes, según tesis, llevando el orden desde la primera planta a la 20, la más alejada de cada fila. Antes de comenzar las labores en cada una de las repeticiones, se actúa de la misma manera, con el cuchillo o guantes, según tesis, en plantas virosadas por ToBRFV, previamente confirmadas y marcadas en la plantación, que constituiría el foco primario, origen de la dispersión en las líneas de ensayo.

Una semana después se realiza una segunda labor en una de las repeticiones de las dos tesis anteriores, en este caso por parte de trabajador especializado de la empresa

que opera de manera habitual en el deshojado y entutorado, comenzando desde la planta 1 a la 20 de cada línea, partiendo de materiales limpios en cada uno.

Posteriormente, hasta que se realizan los controles, las plantas se arreglan individualmente, evitando posibles nuevas contaminaciones.

En las Fotos 38 a 44 pueden verse las condiciones en las que se ha realizado la experiencia y en la Figura 13 las plantas que se

infectaron por rugoso en cada una de las variantes, según las estimaciones visuales realizadas cuatro semanas después de la primera labor con posibilidad de infección.

Fotos 38 a 44. Preparación de la parcela, trasplante y protección (38 y 39), planta que constituye el foco primario para una de las repeticiones (40 y 41), zona de corte delimitada en los cuchillos (42) y primera (43) y segunda labor (44) de cultivo con capacidad de dispersión.



Foto 38



Foto 39



Foto 40



Foto 41



Foto 42

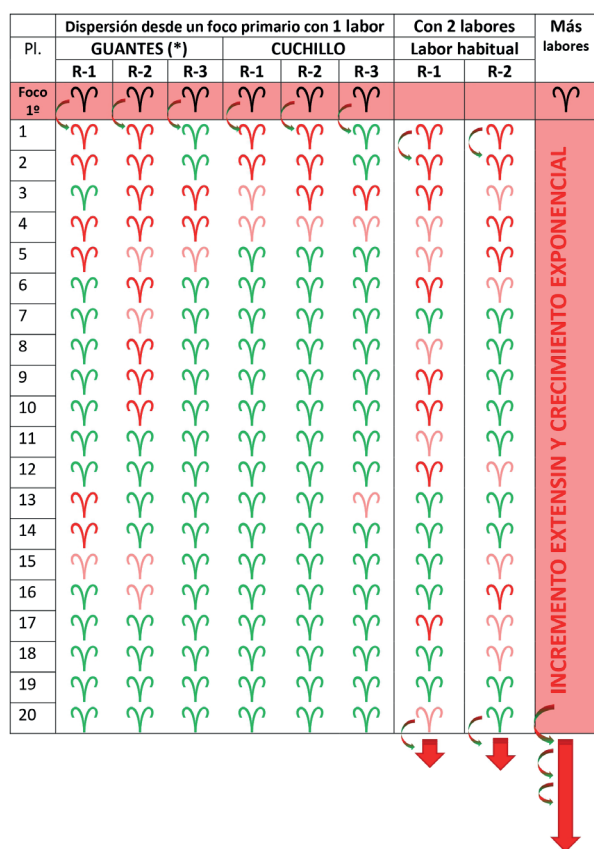


Foto 43



Foto 44

**Figura 13. Esquema de la evolución de las infecciones tras una y dos labores.**



Los resultados de esta experiencia confirman que con una única labor, tras haber pasado por una planta infectada por el virus rugoso, la infección es transmitida eficazmente a un importante porcentaje de las plantas posteriores que se trabajan, porcentaje que se va reduciendo conforme nos vamos alejando del foco primario. Tan solo con una segunda labor, realizada antes de que se pudiera observar ningún síntoma, se produce un incremento muy significativo de nuevas infecciones. Con toda seguridad, si se hubiera dispuesto de líneas con mayor número de plantas, se hubieran observado contaminaciones puntuales más alejadas y, con nuevas labores, presumiblemente un crecimiento cada vez más rápido de las infecciones.

Estos trabajos corroborarían la hipótesis de que las transmisiones por las labores habituales realizadas sobre las plantas son la forma más eficaz de dispersión secundaria, especialmente desde las plantas afectadas a las siguientes en las que se realizan las labores, reduciéndose las probabilidades de contaminación conforme se ha ido pasando ya por otras plantas, pero pudiendo producirse también contaminaciones en plantas aisladas relativamente alejadas del origen, tras varias plantas no contaminadas. Si bien esto sería anecdótico con una sola labor, con el tiempo, conforme se reiteran las labores, la expansión de la enfermedad se haría mucho más rápida, ya que cada vez se encontrarían más plantas con el virus alejadas del foco inicial. Esto explicaría el crecimiento exponencial de las infecciones en las plantaciones, con una distribución inicial que seguirá, durante las primeras fases, las líneas de cultivo o zonas de trabajo.

Además, las infecciones pueden tener su origen en plantas que todavía no muestran síntomas, lo que genera dudas de la eficacia de eliminar las plantas sintomáticas en la contención de la dispersión, salvo que se realizara en amplios sectores en los que se detecten las primeras plantas afectadas.

La eficiencia o número de plantas a las que llega la transmisión desde una planta de origen puede ser muy variable, en función de las características y condiciones en las que se realizan las labores y el tamaño o follaje de las plantas, que impliquen un mayor o menor contacto. Así, en la eliminación con las manos (con guantes) de brotes y hojas, en las que solo se toque la parte que se retira de la planta, difícilmente habrá transmisiones, mientras cuanto más contacto haya con la planta, algo que no pueden evitarse en los entutorados, más probabilidades de dispersión habrá.

Un indicador a tener en cuenta en el riesgo de transmisión por operarios y herramientas, podría ser el verdín que mancha los ob-



jetos y guantes, así como diversas partes de la vestimenta de los trabajadores, procedente de la rotura de tricomas y tejidos de las plantas que tocan. Con esa transferencia de verdín es de suponer que también pueda transferirse el virus, aunque habría que realizar ensayos específicos para contrastar esta hipótesis. Sin embargo, aunque con el simple roce entre plantas contiguas podría haber algunas lesiones y producirse la transferencia del virus, en la práctica parece que tendría poca relevancia en relación a las labores. Esto puede comprobarse por la distribución de plantas afectadas por rugoso en plantaciones comerciales, que en muchos casos sigue el patrón de las labores sobre las plantas que se trabajan seguidas, observándose, a veces, una cara de la doble línea afectadas y las plantas de la otra cara, con las que se han estado rozando, sanas (Foto 45).

Foto 45. Típica dispersión por labores afectando a varias plantas, más o menos seguidas, de una sola cara de la doble línea



Fotos 46 y 47. En plantaciones con fenologías avanzadas resulta difícil evitar la dispersión del virus con las numerosas labores que se realizan.



Todos estos datos y observaciones indican que las contaminaciones secundarias se producen, básicamente, por las frecuentes labores que se realizan a las plantas, en algunas fechas hasta más de una semanal. Mientras la plantación es muy joven, primeras seis a diez semanas, las medidas de prevención recomendadas para evitar la dispersión del virus con las labores pueden resultar eficaces (desinfecciones frecuentes de herramientas y guantes y rozar el mínimo posible las plantas). Sin embargo, conforme crecen las plantas se producen más roces y roturas con los trabajadores lo que incrementa los riesgos de transmisión y reduce la eficacia de las medidas de prevención.

Por ello, en plantaciones en estados fenológicos avanzados, la única medida que podría ser realmente eficaz para limitar la extensión de las infecciones secundarias, sería la compartimentación de las zonas de trabajo (grupos de líneas, sectores o por jornadas de trabajo), no pasando de unas zonas a otras sin haber desinfectado todos los utensilios, equipos fitosanitarios, cajas de recolección y haberse cambiado las batas o ropa de trabajo.

En el caso de detectarse plantas con síntomas que pudieran estar relacionados con rugoso, deberían marcarse esas zonas y trabajarlas de manera totalmente independiente al resto de la plantación.

## ¿QUÉ DESINFECTANTES DEL VIRUS PUE- DEN UTILIZARSE PARA LAS HERRAMIENTAS Y ESTRUCTURAS?

Son numerosas las referencias a productos con efectos viricidas que podrían utilizarse en la desinfección de herramientas y otros utensilios, entre los que destacarían los derivados del cloro, ácido benzoico, fosfato trisódico, etanol, peróxido de hidrógeno, amonios cuaternarios, etc. En experiencias realizadas en el IMIDA para la desinfección de cuchillos y materiales plásticos, previamente impregnados con un extracto con el virus, se han utilizado algunos de los productos comerciales de referencia a diferentes dosis y condiciones de exposición (lejía doméstica 40 g/L Cl al 5 y 10%, Virkon al 1 y 2%, Virocid al 0,5 y 2%, sosa al 1%, Nenno Florades 2% y agua oxigenada pura), con tiempos de inmersión en la solución de 5 minutos y de 15 segundos. Cuando se han utilizado las dosis más elevadas y tiempos de exposición largos, no se han detectado infecciones desde los objetos tratados, a excepción del agua oxigenada, mientras que con las dosis bajas y corto tiempo de exposición se han detectado positivos con varios de ellos. Aunque los resultados de estas experiencias no son todavía concluyentes, el hecho de haberse detectado algún positivo indica ya que esa tesis no garantizaría la desinfección, aunque ello no quita que puedan reducir sustancialmente la capacidad infectiva.

Las conclusiones de estos trabajos y referencias consultadas indican que la eficacia de los desinfectantes sobre el virus rugoso dependerá de sus condiciones de uso, en especial de la concentración utilizada y del tiempo en el que se mantiene en contacto con la superficie a desinfectar, si bien para las condiciones recomendadas de uso de los diferentes productos comerciales se han detectado diferencias importantes en sus eficacias. Con la información y experiencia de la que disponemos en estos momentos, podríamos realizar las siguientes indicaciones para los diferentes propósitos

en los que se puede plantear el uso de desinfectantes:

**Labores en plantaciones.** A nivel práctico en campo, se podría destacar como un sistema viable, económico y eficaz para las frecuentes desinfecciones que deben realizarse a los guantes y herramientas de corte, la preparación de una solución de lejía comercial (del 40% de cloro activo), a una dosis de 6-10 cc/L de agua, frotando en el caso de los guantes o dejando las zonas de corte de las herramientas inmersas en el caldo durante unos minutos, antes de volver a utilizarlos. Además, puesto que el caldo se irá ensuciando y el cloro evaporando, habrá que ir renovando la solución con cierta frecuencia, máximo cada 2-3 horas. En el mercado hay disponibles otros productos específicos para la desinfección de herramientas, cajas y otros utensilios que puede adaptarse mejor a determinados usos.

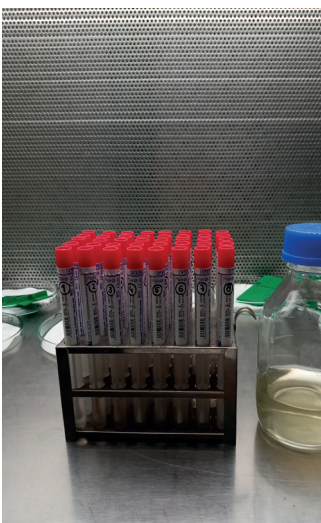
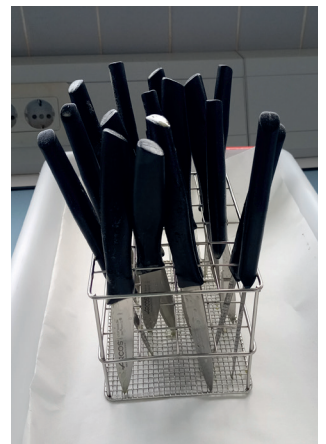
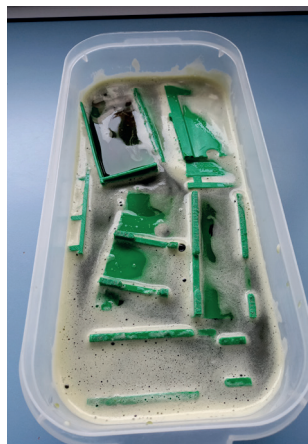
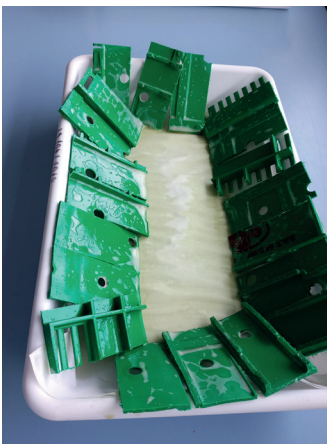
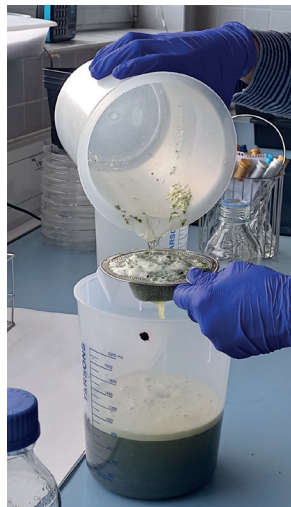
**Tratamientos de estructuras.** En el caso de las desinfecciones de las estructuras de los invernaderos y mallas no estaría tan clara la necesidad de aplicar productos de ese tipo, salvo tiempos muy breves entre plantaciones. Algunas referencias indican que el virus se mantiene con capacidad infecciosa en las superficies inertes relativamente poco tiempo, no más de unas cuantas semanas. En experiencias propias, que se describen más adelante, hemos podido comprobar que tras frotar e impregnar diferentes materiales inertes de un invernadero (tubo galvanizado, manguera de PE y material de las estructuras, Fotos 59 a 64) con plantas de tomate infectadas de rugoso, no se ha detectado capacidad infectiva en ninguno de ellos después de 12 semanas.

Por ello, en base a los conocimientos y resultados de estas experiencias, podría decirse que la mejor opción para reducir la presión fitosanitaria general en el interior de invernaderos y mallas, sería simplemente mantenerlos limpios y cerrados durante el máximo tiempo posible, mínimo unas 8





Fotos 48 a 58. Imágenes de la metodología utilizada: obtención del extracto, recubrimiento diferentes materiales, introducción en soluciones desinfectantes y toma de muestras para test ELISA y pruebas de infectividad.



semanas en verano, que se alargará a 10-12 en épocas más frescas, tiempos en los que difícilmente se va a mantener la capacidad infectiva del virus rugoso sobre las superficies metálicas y plásticos (aunque sí en restos vegetales).

**Tratamientos desinfectantes sobre suelos y sustratos.** La introducción de productos desinfectantes a suelos y sustratos para intentar eliminar la infectividad del virus difícilmente va a ofrecer eficacias importantes. Esto se debe a que el virus suele permanecer activo en el interior de los tejidos vegetales (raíces, tallos y otros restos), a los que difícilmente van a penetrar los desinfectantes, más teniendo en cuenta las profundidades que habría que cubrir. Además, la aplicación de formulados que no estén específicamente desarrollados y autorizados para ese uso puede ser un grave error puesto que, además de ilegal y no solucionar el problema, puede generar importantes riesgos y efectos indeseados sobre la microbiótica del suelo o la formación de metabolitos peligrosos.

### ¿CÓMO, Y DURANTE CUÁNTO TIEMPO, PERSISTE EL VIRUS EN PARCELAS AFECTADAS? ¿QUÉ “MEDIDAS DE EXCLUSIÓN” PUEDEN ADOPTARSE?

ToBRFV es un virus muy persistente, que permanece activo durante meses, incluso años en restos vegetales, por lo que las medidas recomendadas para parcelas que han sido afectadas se basan en prácticas de higiene, desinfecciones de superficies con productos específicos, sustitución de sacos de hidroponía, en su caso, y de otros materiales que pudieran estar contaminados, así como rotaciones con otras especies hortícolas que no sean sensibles al virus.

Al igual que para la dispersión, se han realizado una serie de experiencias y de estudios para determinar la viabilidad y eficacia de posibles medidas de exclusión. Estos trabajos tienen como objetivos comprobar

la importancia de los restos vegetales de tomate y de especies arvenses habituales, en parcelas comerciales con daños muy severos de este virus.

### Experiencia de “exclusión” del virus de un invernadero con antecedentes de rugoso.

Para esta experiencia se parte de un invernadero comercial de 5 ha, con una plantación de tomate en la campaña 2022-2023 con una incidencia del virus rugoso que afectaba a la totalidad del cultivo, con daños muy severos en calidad y producción. Los análisis por RT-qPCR confirmaron las altas cargas de ToBRFV, además de la presencia de PepMV-CH2 y PepMV-EU en todas las plantas analizadas, así como la detección de ToCV y TYLCV en algunas de ellas. El invernadero, dividido en siete sectores separados por caminos internos, se puso a disposición del IMIDA para comprobar la viabilidad y eficacia de toda una serie de prácticas encaminadas a eliminar el inóculo infectivo de la parcela.

Tesis ensayadas:

- **Referencia con los máximos riesgos:** eliminación y retirada de los restos de la plantación anterior, manteniendo el sector abierto para que no suba excesivamente la temperatura y realizando la nueva plantación en poco más de tres meses desde que se quita la plantación afectada.
- **Rotación:** en una parte de la plantación, en el mes de marzo se eliminan y retiran las plantas de tomate para intercalar un cultivo de cucurbitáceas, en este caso sandía, antes de volver a poner la nueva plantación de tomate a finales de agosto.
- **Barbecho limpio y abierto al exterior,** que se mantiene de marzo a finales de agosto, hasta la siguiente plantación de tomate.
- **Solarización:** incluye dos sectores completos, con un total de unos 13.100 m<sup>2</sup>, que se solarizan siguiendo las recomendaciones habituales para esta práctica en la zona. Estas consisten en la limpieza y retirada de restos vegetales, cubrición



del suelo con un acolchado plástico de PE transparente de 200 galga de espesor, puesto a todo terreno, bien sellado y humedeciendo el suelo con varios riegos cortos, que se realizan durante los tres primeros días tras su colocación. El plástico se coloca a finales de mayo y se retira a mediados de agosto, unos 15 días antes del trasplante.

- **Control cerrado sin desinfectar:** en los sectores de la solarización se dejan partes de la superficie sin cubrir con el plástico.

- **Solarización + desinfección con Metam sodio.** Incluye cuatro sectores del invernadero, unos 31.800 m<sup>2</sup>. En este caso se utiliza un plástico TIF y se incorpora Metam sodio a una dosis de 600 kg/ha, siguiendo las indicaciones técnicas para este tipo de desinfección. Al igual que en la tesis anterior, el acolchado plástico se mantiene sobre el terreno durante los meses de junio, julio y principios de agosto.

Para estimar la importancia relativa que pueden tener distintos elementos del invernadero y su localización sobre la persistencia del virus, para cada una de las tesis se preparan una serie de objetos de distintos materiales y "sondas vegetales" con el virus (material vegetal infectado por ToBRFV localizado a diferentes profundidades del suelo (0, 15 y 30 cm)). Para preparar estas sondas vegetales, se trocean y mezclan varias plantas con síntomas de rugoso (hojas, peciolo, tallos y raíces), introduciendo unos 50 gr gramos de este material, previamente desecado, en bolsas de muselina. El análisis previo de las plantas utilizadas confirma la alta carga viral de ToBRFV y, además, la presencia de otros virus (PepMV-CH2, ToCV y TYLCV), coinfecciones habituales en la zona.

También se incluyen secciones de manguera de riego (PE negro de 16) que se mantienen en superficie, en condiciones habi-

tuales de las tuberías portagoteros, y se marcan zonas en tubos galvanizados y en plásticos y mallas de las bandas laterales de los invernaderos. Esos elementos son frotados con una mezcla de fragmentos de plantas virosadas para garantizar que parten con el virus y en condiciones similares en todas las variantes y repeticiones, cuya positividad es confirmada en laboratorio antes de ser sometidos a las diferentes tesis.

Fotos 59 a 63. Imprimación con plantas virosadas de diferentes materiales, para asegurar que se parte de superficies infecciosas.





Los controles realizados incluyen análisis ELISA para ToBRFV de los diferentes materiales, así como la comprobación de su capacidad infectiva sobre plantas de referencia. En suelo, además de las sondas vegetales colocadas, se analizan muestras de tierra tomadas a diferentes profundidades (0-10, 15-25 y 30-40 cm). También se registra la evolución de las temperaturas ambiente y en los distintos perfiles del suelo, en las tesis que así se indican (Figuras 14 a 21). En la Figura 22 se recogen las mediciones de temperaturas en otra experiencia de solarización, en este caso en un invernadero multitúnel con mejores cerramientos y sacos de coco.

Fotos 64 y 65. Preparación de las sondas vegetales y colocación en superficie y a 15 y 30 cm de profundidad (etiquetas que sobresalen), en las diferentes repeticiones y tesis.



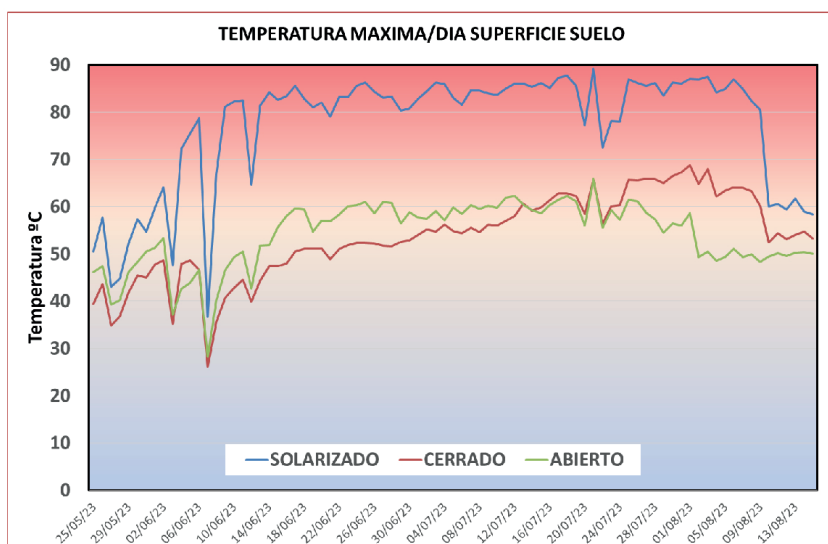
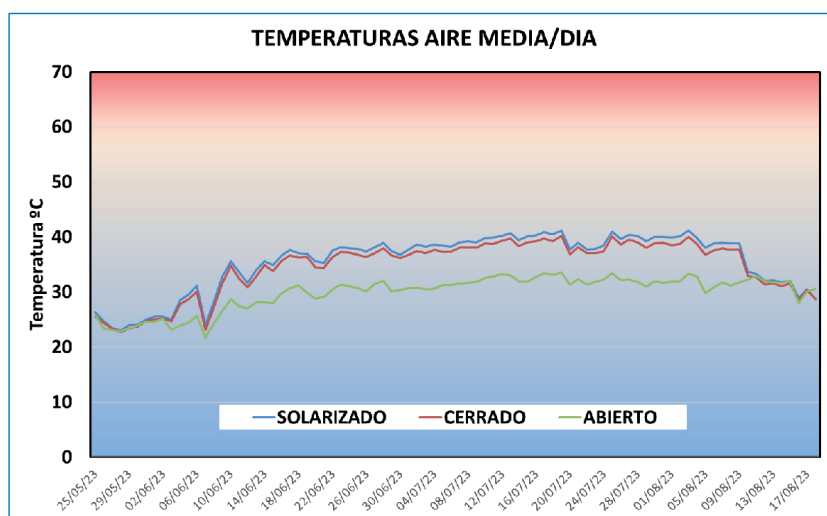
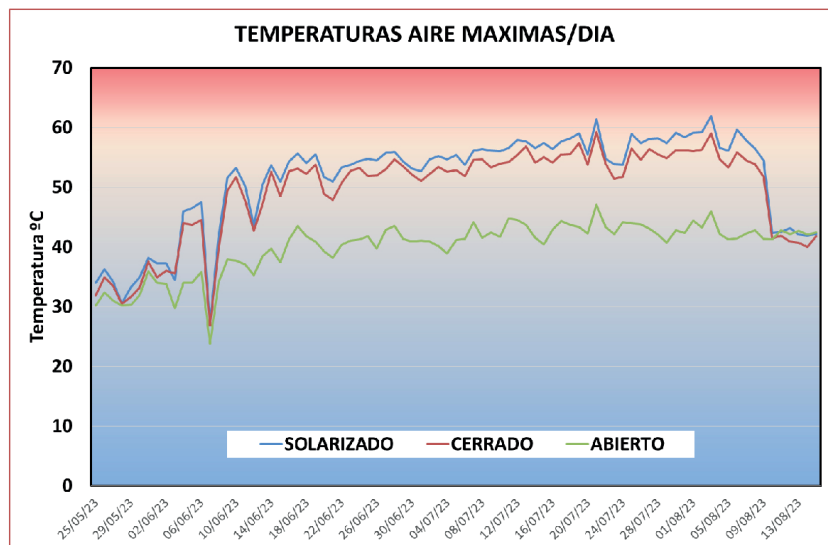
Foto 66. En algunas variantes se incluyen también sacos de hidroponía con antecedentes de rugoso.

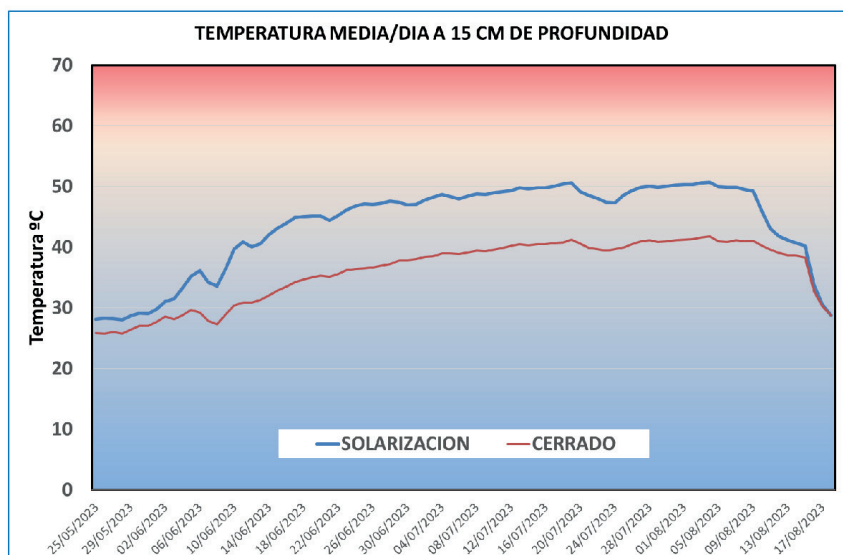
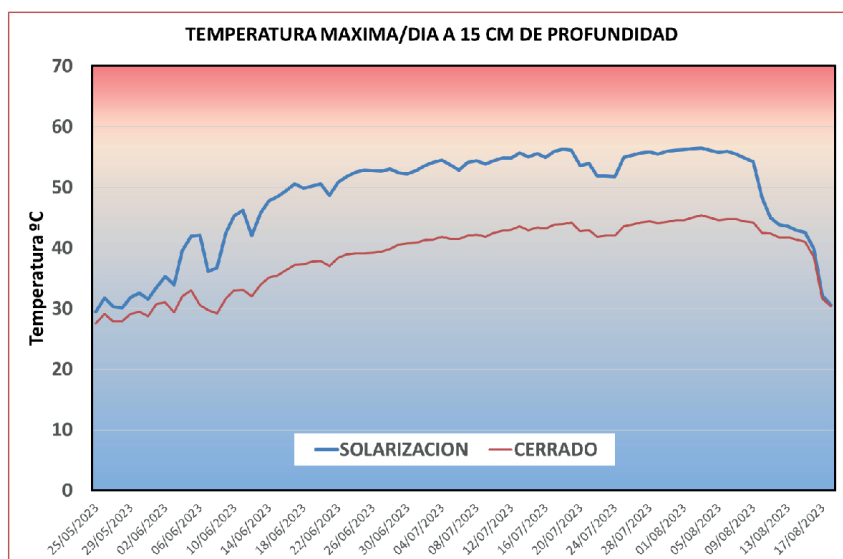
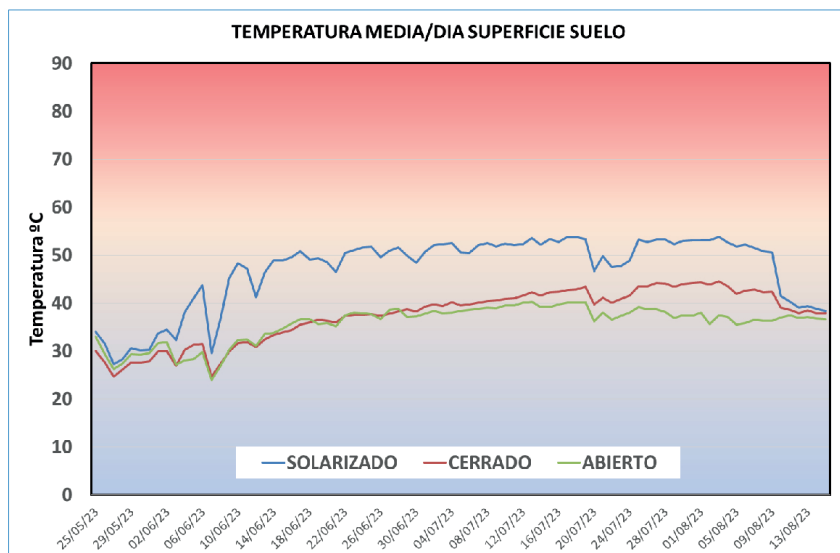


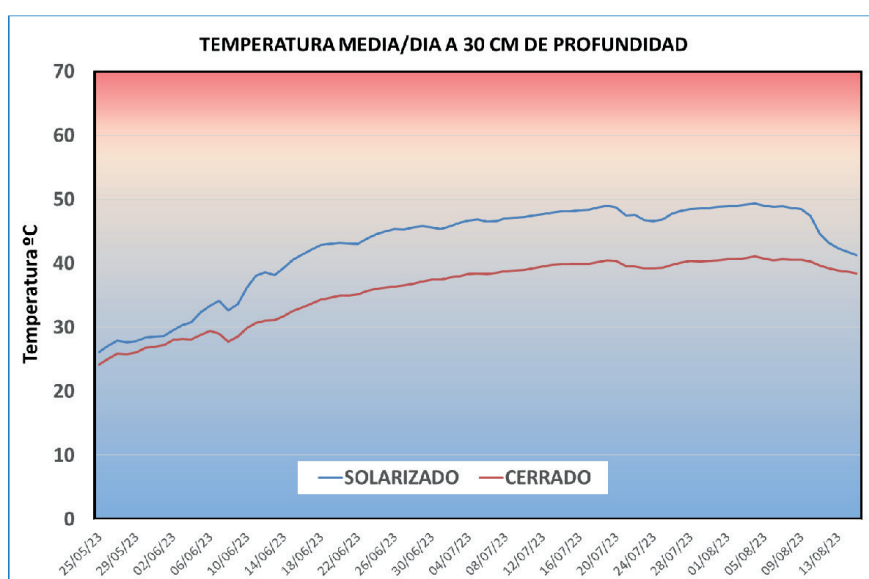
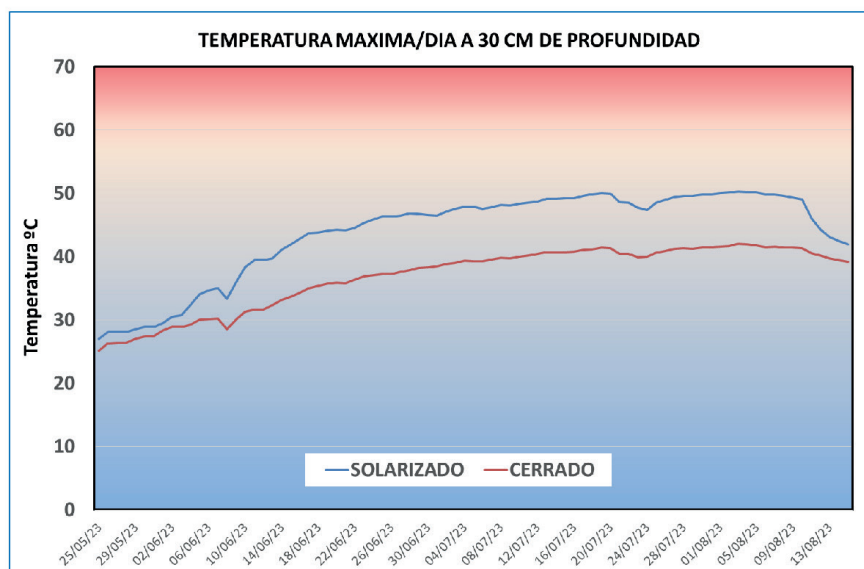
Fotos 67 a 71. Recuperación de sondas y toma de muestras de suelos a diferentes profundidades y localizaciones a las que se les realiza test ELISA y pruebas de infectividad.



Figuras 14 a 21. Evolución de las temperaturas máximas/día y medias/día, para el aire y los diferentes perfiles del suelo, en variantes solarizadas y no solarizadas.





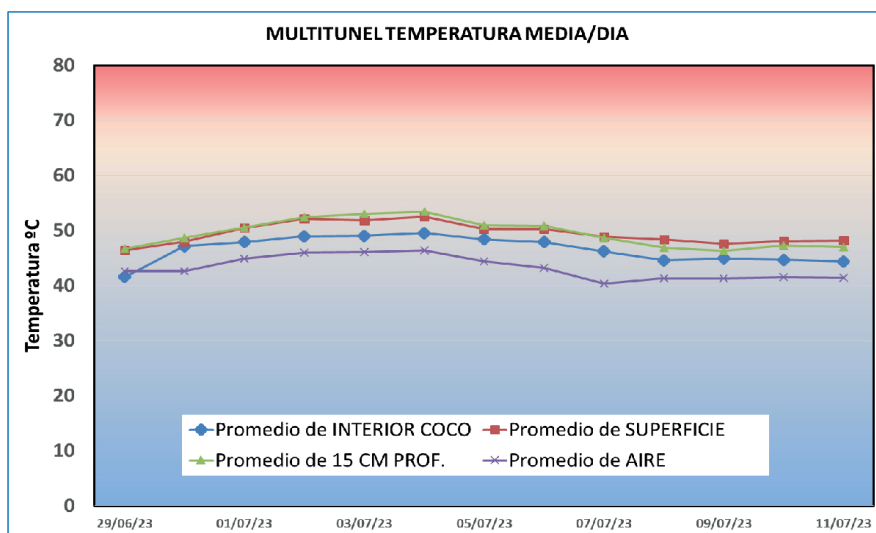
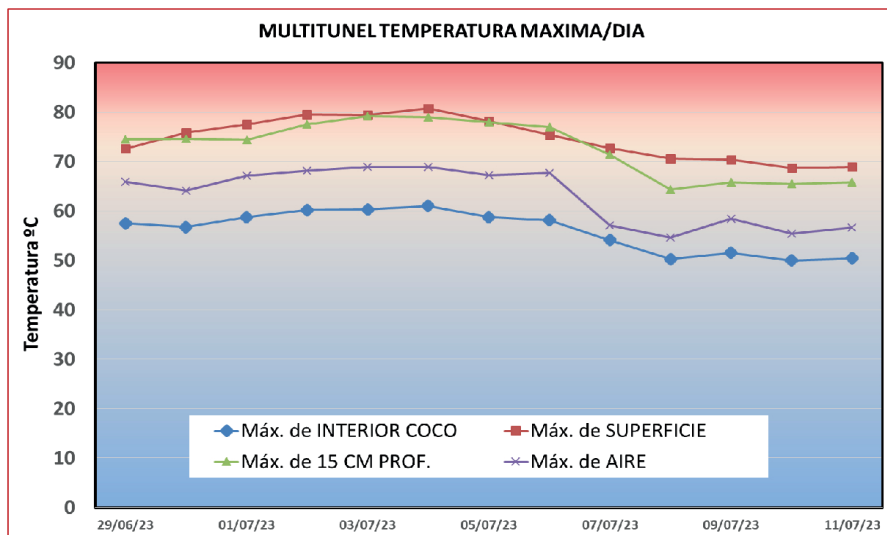


En la plantación posterior comercial, para la que se utiliza una variedad de tomate con alta resistencia a ToBRFV, se incluye una serie de plantas indicadoras sensibles (tomate variedad Paipai y *Nicotiana benthamiana*) para determinar, en condiciones habituales de cultivo, la capacidad infecciosa del terreno sobre la nueva plantación en cada una de las tesis. En total, de cada tesis se realizan cuatro repeticiones, cada una con seis plantas de cada especie. Esas plantas son evaluadas visualmente y se toman muestras de todas ellas a las seis semanas para determinar mediante test ELISA

el porcentaje de plantas que han adquirido el virus, presumiblemente desde el suelo. A los cinco meses se realiza un segundo muestreo para comprobar las plantas que habrían adquirido el virus posteriormente, ya sea desde el suelo o mediante las labores de cultivo habituales, para el que se analizan diez plantas de la variedad con alta resistencia utilizada por el agricultor, por repetición, para cada una de las tesis, en total 240 plantas y las plantas sensibles de referencia que se habían intercalado con la variedad principal resistente, en total 140 plantas sensibles.



Figuras 22 y 23. Evolución de las temperaturas máximas/día y medias/día, para el aire, interior de los sacos, superficie suelo (bajo el plástico) y 15 cm de profundidad, en un invernadero de alta tecnología solarizado.



Los resultados de estas experiencias y controles, pueden resumirse en las siguientes conclusiones:

1) Las infecciones desde suelos con graves antecedentes del virus rugoso, tanto de plantas trasplantadas directamente en la parcela de campo como en macetas, con muestras de los suelos de diferentes profundidades, han afectado a un bajísimo porcentaje de plantas. Sin embargo, esas pocas plantas pueden constituir los focos primarios de los que se dispersará rápidamente el virus con las labores al resto de

esas nuevas plantaciones.

En los controles realizados después de cinco meses desde el trasplante, el número de plantas detectadas con rugoso sigue siendo muy bajo, menos del 1% en ambas variedades. Esto confirman las pocas transmisiones que se han producido desde el suelo y la baja o nula dispersión secundaria que se ha producido en la plantación, muy posiblemente por tratarse de una variedad con alta resistencia y, en el caso de la sensible, estar las plantas aisladas entre las resistentes.



## RESTOS VEGETALES DE TOMATE EN LOS QUE PUEDE ACUMULARSE Y PERSISTIR EL VIRUS

Aunque hay referencias que indican que el virus rugoso puede detectarse en diferentes partes de las plantas, acumulándose más en los tejidos jóvenes, se ha realizado un estudio detallado de la distribución del virus en plantas con una fenología próxima a la finalización del ciclo. El objetivo de este trabajo era determinar la importancia relativa, en el mantenimiento de la infectividad de la parcela, que puede tener que se queden fragmentos de las plantas entre ciclos de cultivo.

Para ello se cogieron dos plantas con síntomas muy patentes de rugoso, a las que se les realizó un análisis específico de ToBRFV mediante test ELISA de las siguientes partes: brote apical, hojas a 1 metro del ápice, hojas viejas a 2 metros del ápice, tronco principal a 40 cm la zona apical, tronco principal próximo al suelo, raíces y suelo circundante a estas (tamizado para eliminar en lo posible las raicillas).

En la Foto 72 vemos los fragmentos analizados y positividad a rugoso (círculo rojo), concluyéndose que el rugoso está presente, y puede persistir en las parcelas, en cualquier fragmento de planta que pueda quedar en el suelo, como era de esperar. Sin embargo, sobre el suelo circundante a las raíces no hay datos concluyentes, lo que podría indicar, que de estar presente el virus, lo sería en muy bajas concentraciones (posiblemente en partículas de raíces que no se eliminan), algo que también hemos confirmado en otros estudios y en las pruebas de infectividad.

Estos datos son especialmente importantes para priorizar las actuaciones a realizar en campo, porque indican que una buena retirada de los restos vegetales, incluido el máximo de raíces, reducirá la carga de inóculo de la parcela y, con ella, la presión para plantaciones posteriores, dado que los métodos que se han probado para eliminar la capacidad infecciosa de los restos vegetales no han resultado eficaces.

Foto 72. Partes de las plantas analizadas (en rojo + a ToBRFV)





## RELEVANCIA DE OTRAS ESPECIES VEGETALES EN LA CONSERVACIÓN DE LA INFECTIVIDAD

Son numerosas las especies vegetales de las que hay referencias de que son hospedantes del virus rugoso, algunas tan comunes en nuestros campos y eriales como los cenizos (*Chenopodium* spp.), bledos (*Amaranthus* spp.), tomatito o hierba mora (*Solanum nigrum*), corregüela (*Convolvulus* sp.), pinitos (*Erigerum* sp.), verdolaga (*Portulaca oleracea*) o el estramonio (*Datura stramonium*). Muchas de estas han sido confirmadas en prospecciones y análisis realizados por el IMIDA, a las que habría que sumar otras de las que también hemos encontrado ejemplares positivos al virus, como los gaudules (*Nicotiana glauca*) o cerrajas (*Sonchus oleraceus* y *Sonchus tenerrimus*).

Esta diversidad de hospedantes potenciales nos da una idea de la dificultad de erradicar una virosis tan compleja de una comarca de producción donde se ha introducido. Además, algunas especies no siempre manifiestan síntomas especialmente agresivos de la virosis o están en porcentajes de plantas infectadas muy pequeños, por lo que sus infecciones pueden pasar desapercibidas.

Fotos 73 a76. Hierbas tan comunes como la hierbamora, cenizos, bledos o gaudules, pueden ser hospedantes del virus rugoso, a veces asintomáticos.



Lo que también nos indican estos datos es la importancia que tiene la implementación de las medidas de higiene en las parcelas de cultivo que hayan estado afectadas por el virus, fundamentalmente invernaderos y mallas, manteniéndolos libres de vegetación entre ciclos de cultivo y realizando un exhaustivo control de las hierbas durante las rotaciones con otras hortalizas no hospedantes, puesto que esas hierbas podrían perpetuar la capacidad infectiva en la parcela para posteriores plantaciones de tomate.

### Conclusiones generales a los trabajos de persistencia del virus en las parcelas y de medidas de exclusión:

Las conclusiones al conjunto de los trabajos realizados sobre la persistencia del virus en las parcelas afectadas y las posibles "medidas de exclusión", indicarían que no disponemos de estrategias que garanticen la eliminación de la capacidad infectiva (ni solarización, ni biofumigación, ni fumigantes disponibles, ni barbechos, ni rotaciones, al menos con duraciones cortas), que el virus persiste principalmente en los restos vegetales que quedan en la parcela y suelos y que algunas hierbas muy comunes en nuestras zonas de producción podrían contribuir también a mantener los problemas en parcelas afectadas.

Sin embargo, se puede reducir enormemente la presión de este, y de otros virus, retirando al máximo los restos vegetales de plantaciones anteriores y de hierbas, prac-



ticando técnicas de solarización y otras que mantengan la parcela lo más limpia posible durante el máximo tiempo y con temperaturas más elevadas.

Estas buenas prácticas agrarias son necesarias también cuando se trabaja con variedades de tomate con resistencias a ToBRFV, para optimizar sus producciones y calidades, así como minimizar los riegos generados por este y otros virus en condiciones de estrés, en infecciones múltiples o por una excesiva presión del virus.

### ¿QUÉ HACER CON LOS RESTOS DE PLANTACIONES AFECTADAS POR RUGOSO?

En estos momentos, en la práctica, es muy difícil establecer unas normas seguras y viables, que deberían incluir la retirada y transporte de los restos en vehículos cerrados y su confinamiento y tratamiento en instalaciones adecuadas, de las que actualmente no se dispone en muchas regiones.

Por ello, en algunas zonas solo queda la quema, siendo una opción que puede generar molestias a poblaciones próximas, además de un importante desperdicio de materia orgánica, por lo que es necesario buscar otras soluciones.

Lo que sí es conocido por trabajos publicados, es que la ingesta de esos restos para la alimentación del ganado no elimina su capacidad infectiva tras pasar por el tracto digestivo de los animales. En experiencias propias con cabras, se ha visto que una parte de las plantas, tras ser masticadas, son devueltas al exterior sin ingerir en forma de pequeños fragmentos que, lógicamente, conservan toda su infectividad. Pero además, tal y como estaba ya referenciado, la parte que pasa realmente por el tracto y es recogida posteriormente como excrementos, también mantiene capacidad infectiva.

Por ello, la utilización de estiércol de ganado alimentado con plantas infectadas por

rugoso para la biofumigación o la mejora del suelo en las nuevas plantaciones de tomate es un riesgo que no debe asumirse.

Fotos 77 y 78. En experiencia de alimentación de una cabra con plantas de tomate virosadas, se observan fragmentos que no llegan a ser ingeridos y excrementos que siguen siendo infectivos.



### ¿QUÉ SABEMOS DEL COMPORTAMIENTO DE LAS VARIEDADES CON RESISTENCIAS A RUGOSO EN NUESTRAS CONDICIONES Y SISTEMAS DE PRODUCCIÓN?

A lo largo de estos dos últimos años, se han ido incorporando en campo numerosas variedades con diferentes grados de resistencias, con resultados que han generado algunas dudas entre técnicos y productores sobre su protección real frente a los daños de rugoso, al margen de otros problemas puntuales en producción o calidad.

También existen incertidumbres sobre su papel en la epidemiología del virus, si son capaces de multiplicar o no el virus o si estas plantas o sus restos pueden resultar in-



fecciosos para otras plantas sensibles.

Para intentar dar respuesta a algunas de estas interrogantes, se ha realizado una experiencia específica de variedades con diferentes grados de resistencias frente a rugoso, que han sido sometidas a distintas condiciones de presión del virus, todas ellas en un mismo invernadero y llevadas con manejos similares en cuanto a labores, fertirrigación o tratamientos fitosanitarios.

La experiencia incluye una variedad "Sensible" de referencia, nueve variedades catalogadas con "Resistencia Intermedia" y otras cinco con "Alta Resistencia", algunas de ellas injertadas tanto sobre patrones sensibles como en alta resistencia, en total 19 combinaciones. Estas variedades abarcan a varias tipologías de tomate (pera, rama, canario y beef).

Las 19 combinaciones son sometidas a distintas condiciones de presión del virus. En un primer caso, diez días después del trasplante todas plantas se inocularon de forma controlada utilizando un extracto obtenido de plantas sintomáticas en campo que, tras ser analizadas, se confirman altas cargas virales de ToBRFV, detectándose también la presencia de PepMV-CH2 y bajas cargas virales de ToCV y TYLCV (difícilmente se encuentran en campo infecciones simples solo por rugoso).

Fotos 79 a 81. Inoculaciones forzadas de las plantas diez días después del trasplante.





En una segunda variante se realizan las mismas inoculaciones controladas pero, en este caso, se incluyen aplicaciones semanales de un "bioestimulante", un abono foliar de referencia en la zona, a base de ácido algínico, manitol, nitrógeno, potasio y aminoácidos libres. Las aplicaciones comienzan tres días antes de las inoculaciones y se prolongan durante cinco semanas. El objetivo era comprobar si las aplicaciones de este tipo de productos son capaces de atenuar los síntomas, y por lo tanto los daños, como apuntaban algunos comentarios de campo.

En el tercer caso, la colección de variedades se trasplanta en una parcela con antecedentes inmediatos de rugoso, en donde la plantación afectada se había arrancado tres meses antes y no había tenido ninguna otra preparación, lo que podría constituir una situación habitual con una importante presión del virus.

En la cuarta variante, la colección de variedades se establece sobre una parcela que había sido solarizada y desinfectada con Metam sodio, teóricamente en mejores condiciones para reducir la presión de inóculo en el suelo procedente de la plantación anterior. En estas dos últimas variantes no se realizaron inoculaciones, por lo que las infecciones, caso de producirse, procederían de remanentes del virus que pudieran quedar en el suelo o de contaminaciones secundarias por labores.

Sobre las diferentes variedades y tesis se realizan controles visuales periódicos de las sintomatologías observadas. Sobre las dos primeras variantes (que habían sido inoculadas a los diez días), tras dos meses de cultivo se realiza un análisis por qPCR de la planta central de cada repetición para obtener una estimación aproximada de la carga viral, en función al número de ciclos en los que se detecta el virus.

Cinco meses después del trasplante se realiza un nuevo análisis de todas las plantas

que habían sido inoculadas, en este caso por test ELISA, para determinar si siguen mostrándose positivas o no, en especial las correspondientes a variedades con resistencias. Además, se analizan las plantas de las variantes no inoculadas para determinar el número de individuos infectados y si las condiciones de preparación del suelo habían tenido alguna influencia.

De las plantas que fueron inoculadas de todas las variedades, dos meses después de las inoculaciones se preparan extractos que se ponen en contacto con plantas en macetas de tomate de una variedad sensible de referencia, sobre la que se comprueba la capacidad infectiva.

Otros controles incluyen evaluaciones visuales de las características agronómicas de la calidad y desarrollo de cada una de las variedades, estimaciones que fueron realizadas con ayuda de técnicos experimentados en el cultivo del tomate, y que fueron bastante complejas por la interferencia del virus de la cuchara "TYLCV" en algunas variedades, especialmente agresivo esta campaña, posiblemente por las condiciones de altas temperaturas del otoño.

De los resultados obtenidos en estos trabajos, con las variedades y condiciones en las que se han desarrollado las experiencias, podríamos destacar las siguientes observaciones:

1. Las variedades catalogadas como de "resistencia intermedia", acumularon concentraciones de virus en las plantas inoculadas muy similares a la variedad de referencia sensible (positivos por RT-qPCR en 10-14 ciclos).

2. En todas las variedades utilizadas con "alta resistencia" se detectó también la presencia del virus, aunque en estas con una carga viral muy inferior (positivos por RT-qPCR en 23-29 ciclos).

Todas las plantas inoculadas de la variedad

sensible y las variedades de resistencia intermedia, mantuvieron la capacidad infectiva cuando se realiza una transferencia de su extracto a plantas sensibles. En el caso de las variedades con alta resistencia, que mostraron baja carga viral por RT-qPCR, aunque también se detectaron positivas por ELISA, sus extractos no fueron infectivos sobre las plantas sensibles de referencia, salvo alguna excepción. Ello indicaría que las variedades que acumulan menos carga viral representarían una ventaja adicional en el manejo de las plantaciones frente a rugoso, tanto por su ausencia (o mayor dificultad) de dispersión secundaria por labores, como por la baja acumulación del virus en la parcela.

3. No hemos podido obtener datos en relación a si los portainjertos con alta resistencia a rugoso impiden las contaminaciones de las pocas plantas que suelen infectarse desde el suelo, y que se convierten en los focos primarios para la posterior dispersión del virus. De impedirla, serían muy útiles en las estrategias de manejo del virus. Lo que no afectarían estos patrones es a la dispersión secundaria, la que se produce básicamente por labores en la parte aérea de la planta. Además, en algún caso, el comportamiento agronómico de la variedad parece haber sido algo inferior, en comparación a cuando está sobre un patrón más adaptado a la zona, aunque sea sensible al virus.

4. La aplicación de un bioestimulante, al menos en el ensayado y en las condiciones en las que se ha utilizado, no ha atenuado en absoluto los daños por rugoso.

5. El desarrollo vegetativo y productivo de las variedades con resistencias a rugoso, incluso las de alta resistencia, se vio muy afectado cuando la presión de virus es muy fuerte (en nuestra experiencia cuando se han forzado las inoculaciones sobre las plantas pequeñas), incluso con síntomas en frutos.

Sin inoculaciones forzadas, también se han visto diferencias muy importantes entre las plantas cultivadas en la parcela peor preparada y con más presión de virus (tanto rugoso como el del pepino dulce) frente a las mismas variedades plantadas en la parcela mejor preparada, en este caso con solarización más Metam sodio.

Todo esto indica la importancia de preparar adecuadamente las parcelas para las nuevas plantaciones, con independencia de que se vayan a utilizar variedades con o sin resistencia.

6. Una adecuada preparación de los suelos para las nuevas plantaciones, en especial una solarización o un largo tiempo de barbecho limpio, resulta especialmente rentable y ventajosa al reducir los riegos fitosanitarios y mejorar producciones y calidades.

7. Las variedades con resistencias al virus rugoso pueden ser afectadas por otros muchos virus, como el PepMV, ToCV, ToFBV, ToMV o TYLCV, con los que suelen producirse infecciones múltiples que agravan los síntomas o bien que provocan síntomas en frutos muy similares a los del rugoso, con los que pueden confundirse.

Por ello, las estrategias de lucha contra el rugoso, aunque sea con variedades con resistencias, deben contemplar a todo el complejo de virus al que nos enfrentamos, no descuidando las medidas de higiene generales y el manejo de insectos potencialmente vectores.



## RESUMEN Y CONSIDERACIONES FINALES

Desde su hallazgo en Jordania e Israel hacia 2014, el virus rugoso o ToBRFV se ha ido extendiendo rápidamente por las principales zonas de producción de tomate de todo el mundo, generando daños muy cuantiosos. En 2021 se detecta por primera vez en la Región de Murcia para unirse al complejo de virus que ya se habían hecho habituales en la zona, complicando la situación fitosanitaria de este importante cultivo.

Desde entonces se ha venido trabajando, primero con la colaboración del Sector, OPAs y MAPA, y a partir de 2023 gracias a un proyecto cofinanciado al 60% con Fondos FEDER y el resto con fondos propios de la CARM. Entre los objetivos de estos trabajos, destacan entender la epidemiología y las interacciones que se podían estar dando con otros virus de la zona, valorar los principales factores de riesgo y las medidas de manejo más viables y eficaces que podían ir integrándose en su prevención y manejo, incluyendo los materiales con resistencias (que tan rápidamente se han ido desarrollando por las empresas de semillas), así como poner a disposición de los productores toda la información y estrategias derivadas de los estudios.

Los primeros resultados del proyecto apuntan a que nos enfrentamos a un problema complejo, en el que interactúan varios factores y situaciones muy diferentes, y para el que no parece haber una solución única ni sencilla. Ningún desinfectante, práctica cultural o variedad con resistencia, por sí solo, va a ser capaz de resolver el problema generado por las virosis en el tomate. Por ello es fundamental integrar todas las medidas al alcance del productor, priorizando las más viables y eficaces para las características de cada empresa y parcela de cultivo, para lo que hay que conocer lo mejor posible los principales factores de riesgo y los aspectos sobre los que se puede intervenir.

Una adecuada estrategia que minimice los riesgos derivados del virus rugoso, y de

otras fitopatologías, integrará los siguientes aspectos:

- Adecuada preparación de las parcelas, que reduzca al mínimo el nivel de inóculo de rugoso y de otras posibles fitopatologías, a la vez que optimice las condiciones de desarrollo del cultivo (higiene de las parcelas, suficiente tiempo entre plantaciones, solarización, etc.).
- Elegir las variedades adecuadas, a ser posible con resistencias, en función del nivel de riesgo y las exigencias comerciales.
- Adoptar las medidas de precaución descritas para evitar la introducción del virus desde el exterior con trabajadores, herramientas, cajas o cualquier otro elemento o equipo en el que pudiera haberse adherido.
- Reducir las situaciones de estrés del cultivo mediante un adecuado manejo de la fertirrigación y elementos que reduzcan, en lo posible, las temperaturas y radiación extrema (adecuadas estructuras y manejo de los sistemas de ventilación, utilización de mallas de sombreo o de productos de blanqueo en determinadas fechas, entre otros).
- Durante las labores habituales de cultivo, tomar todas las medidas posibles para limitar las posibilidades de dispersiones secundarias (desinfecciones frecuentes de guantes y herramientas de corte, compartimentar las zonas de trabajo, etc.), medidas que son más importantes y eficaces cuanto más joven sea la plantación.

- Adoptar medidas de buenas prácticas sobre otros virus y sus vectores, así como plagas, que pudieran acrecentar la severidad de los síntomas y daños.

En la siguiente Tabla se establecen unos niveles de riesgo relativo, en función de los datos y experiencia adquirida hasta la fecha, para los principales factores que pueden intervenir en la problemática derivada por el virus rugoso.

## TABLA NIVELES DE RIESGO PARA DIFERENTES FACTORES RELACIONADOS CON EL CULTIVO

FACTOR DE RIESGO	NIVEL DE RIESGO				Observaciones
	Máximo	Medio	Mínimo	Cero	
NIVEL DE INÓCULO EN LA PARCELA	Poco tiempo entre plantaciones o con restos vegetales	Barbecho limpio >4-6 meses según fechas	Solarización (+Metam) Barbechos largos Rotaciones		Muy importante retirada de restos vegetales
NIVEL DE VIRUS SEGÚN RESISTENCIA DE LA VARIEDAD	Sensibles  Resistencia Intermedia		Alta Resistencia		En mayor o menor medida, todas las variedades ensayadas han mostrado capacidad para hospedar el virus
DISPERSIÓN LABORES INICIALES (Primeras semanas desde el trasplante)	Sin medidas	Con medidas	Con medidas (condiciones y actuaciones muy estrictas)		Muy importante las medidas en plantaciones jóvenes En variedades con alta resistencia, de haber transmisión, sería muy baja
DISPERSIÓN LABORES FENOLOGÍA AVANZADA (Una vez iniciada las recolecciones)	Siempre "casi"	Adecuada compartimentación de zonas de trabajo			Muy difícil evitarlas en fases avanzadas de las plantaciones, con variedades sensibles o con resistencia intermedia
ABEJORROS		Plantaciones finalizadas muy afectadas	Dispersión interna		Eliminar las colmenas al finalizar
MÍRIDOS	Restos plantaciones afectadas	Restos plantaciones afectadas	Dispersión interna		¿? Riesgos para otras plantaciones
DAÑOS ALCANZADOS	Variedades: S (IR)	Variedades: IR (HR)	Variedades: HR		Variables según condiciones (estrés, coinfecciones, ..)
CONDICIONES DE DESARROLLO PLANTACIÓN	Condiciones estrés	Condiciones favorables	Condiciones favorables		Tª, otros virus o enfermedades, fertirrigación, desarrollo radicular....
Aplicación "Biactivadores"	¿*?	¿*?	¿*?		
OTROS HOSPEDANTES (hierbas)	Interior parcelas		Exterior		Controlar las hierbas en rotaciones o entre ciclos de cultivo



**Con la profesionalidad de nuestros agricultores y sus técnicos, y con la ayuda de la investigación pública y privada, con toda seguridad se superará el problema planteado por el virus rugoso, al igual que se han superado otros, manteniendo la calidad y seguridad con la que se producen los tomates en la Región.**









---

## AGRADECIMIENTOS

A todos los agricultores, técnicos del sector y empresas de la Región, muy especialmente a Rabal-Valverde y Grupo Paloma, que han colaborado activamente en los trabajos y han aportado medios y parcelas de cultivo.

A las diferentes empresas de semillas que nos han aportado sus variedades para la realización de los trabajos.

A los colegas especialistas en virología, en especial a Isabel Font y Miguel Aranda, con los que intercambiamos sistemáticamente informaciones, metodologías y propuestas de trabajo.

A las Organizaciones Profesionales Agrarias, al MAPA y al Servicio de Sanidad Vegetal de la Región de Murcia, quienes han apoyado o financiado los primeros trabajos realizados.

Al Fondo Europeo de Desarrollo Rural FEDER, que financia con un 60% el proyecto sobre virosis del tomate, base de este trabajo, y a la Comunidad de Autónoma de la Región de Murcia que aporta el 40% restante con fondos propios.

A todos los compañeros y responsables del IMIDA y de la Consejería de Agricultura que están haciendo posible el desarrollo de este Proyecto.

Un reconocimiento muy especial a D. Alfredo Lacasa, durante décadas tutor de este Equipo de Investigación, con el que todavía sigue colaborando, y con el que se han formado la mayoría de sus miembros.

---



Cofinanciado por  
la Unión Europea

"Europa se siente"

