

Cribado de germoplasma del pepino dulce (*Solanum muricatum*) y parientes silvestres para la resistencia y su manejo frente a cuatro enfermedades importantes del tomate.

Juan Pacheco¹, Jaime Prohens²

Afiliaciones

1 Departamento de Ciencias de la Vida y Agricultura, Universidad de las Fuerzas Armadas, Santo Domingo, Ecuador

2 Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain

Correo de contacto: jepacheco6@espe.edu.ec

Resumen

El pepino dulce (*Solanum muricatum*) es un cultivo andino, filogenéticamente relacionado con el tomate. En las últimas décadas, se ha introducido en la región mediterránea y otras partes del mundo como un nuevo cultivo. Sin embargo, varios patógenos importantes del tomate entre ellos *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), *Verticillium dahliae* (VE), virus del mosaico del pepino dulce (PepMV) y virus del mosaico del tomate (ToMV) pueden amenazar la expansión del cultivo de pepino dulce. Para identificar fuentes de tolerancia, o resistencia inoculamos seis muestras de pepino dulce cultivado, siete parientes silvestres y un híbrido interespecífico con FOL, VE, PepMV y ToMV y se siguió su sintomatología durante 30 días (FOL y VE) y 60 días (PepMV y ToMV). También se realizaron pruebas ELISA para PepMV y ToMV. La mayoría de las accesiones de pepino dulce inoculadas con FOL fueron tolerantes o resistentes. Respecto a VE, se observó una amplia variación en los valores del índice de síntomas (SI), presentando tolerancia tres accesiones cultivadas de pepino dulce. Para PepMV la accesión de *S. caripense* fue resistente y varias accesiones de pepino dulce y otros parientes silvestres mostraron diferentes grados de tolerancia. Los valores de absorbancia de PepMV y ToMV obtenidos mediante pruebas ELISA siguieron un patrón similar al de SI. La información generada en este estudio ha permitido identificar materiales dentro del acervo genético del pepino dulce para el desarrollo de cultivares de pepino dulce multirresistentes a las principales enfermedades que amenazan su expansión.

Palabras clave DAS-ELISA, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Verticillium dahliae*, PepMV, ToMV

Introducción

El pepino (*Solanum muricatum* Aiton), también conocido como “pepino dulce” es un cultivo hortícola de propagación vegetativa originario de la región andina cultivado por sus frutos (Prohens, Ruiz, & Nuez, 1996). Los frutos del pepino dulce son carnosos, típicamente de color amarillo dorado con rayas moradas (Rodríguez-Burruezo, Prohens, & Fita, 2011). Aunque el cultivo del pepino dulce se ha restringido principalmente a la región andina, en las últimas décadas ha habido un creciente interés en varios países de la región mediterránea, así como en China, Japón, Nueva Zelanda o Estados Unidos, de introducir el pepino dulce como nuevo cultivo (Gurung, Chakravarty, Chhetri and Khawas, 2016; Herráiz et al., 2015a; kim, Ishikawa, Yamada, Sato and Shinohara, 2017; Rodríguez-Burruezo et al., 2011). Sin embargo, la introducción del pepino dulce en otros países fuera de su región de origen está amenazada debido a la susceptibilidad a las plagas y enfermedades del tomate (Nuez Viñals & Ruiz Martínez, 1996), que está estrechamente relacionado con el pepino dulce (Herraiz et al., 2015a, 2016a; Särkinen, Bohs, Olmstead y Knapp, 2013). En la región mediterránea, el pepino dulce se cultiva principalmente como cultivo de invernadero, siguiendo prácticas agrícolas similares a las del tomate. (Prohens & Nuez, 1999; Rodríguez-Burruezo et al., 2011). Bajo estas condiciones de cultivo protegidas, hemos identificado dos hongos y dos patógenos virales que afectan al tomate (Lahoz, Carrieri, Crescenzi, & Fanigliulo, 2015), a saber, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), *Verticillium dahliae* (VE), virus del mosaico del pepino (PepMV) y el virus del mosaico del tomate (ToMV), que potencialmente podría causar daños significativos a los cultivos de pepino dulce (Ge, Liu, & Wang, 2012; Jones, Koenig, & Lesemann, 1980; Nuez Viñals and Ruiz Martínez, 1996; Pérez-Benlloch, Prohens, Soler and Nuez, 2001).

La marchitez por *Fusarium* causada por *Fusarium oxysporum* es una de las enfermedades fúngicas más devastadoras del tomate y del pepino dulce (Mandal, Mallick and Mitra, 2009; Nuez Viñals y Ruiz Martínez, 1996). La marchitez por *Verticillium* es causada por VE, un hongo patógeno que afecta a una amplia gama de hospederos solanáceos (Inderbitzin & Subbarao, 2014; Klosterman, Atallah, Vallad, & Subbarao, 2009), responsable de graves pérdidas económicas tanto en invernadero como en cultivos de campo abierto (Gayoso, Pomar, Novo-Uzal, Merino, & Martínez de Il arduya, 2010).

PepMV, un potexvirus que se aisló por primera vez de plantas de pepino dulce infectadas en 1980 (Jones et al., 1980), causa importantes pérdidas en la producción de tomate a nivel mundial (Souiri et al., 2017). ToMV, un miembro del género *Tobamovirus* (Adams, Antoniw, & Kreuze, 2009), tiene una amplia gama de huéspedes que incluyen miembros de la familia Solanaceae como el tomate y el pepino dulce, lo que

socava su rendimiento y calidad de la fruta (Ge et al., 2012; Leiva-Brondo, Prohens and Nuez, 2006; Pérez-Benlloch et al., 2001; Ullah, Akhtar, Saleem and Habib, 2019).

En tomate, décadas de programas de mejoramiento han permitido la identificación de QTLs, fuentes de resistencia genética y genes principales, ya sea en las especies cultivadas o en parientes silvestres, a *Fusarium*, *Verticillium* y ToMV. Estos logros han permitido el desarrollo de variedades modernas con protección efectiva contra estas enfermedades (Lee, Oh, & Yeam, 2015). Sin embargo, hasta el momento no se ha incorporado ninguna resistencia efectiva contra PepMV en tomate (Pechinger, Chooi, MacDiarmid, Ziebell, & Harper, 2019), aunque se han identificado algunas fuentes de resistencia en el tomate silvestre *S. lycopersicoides* (Soler et al. , 2011) y en las muestras de tomate 11R.412000 y 11R.446400 (patente estadounidense US9637757B2). En pepino dulce se han descrito varias accesiones resistentes a ToMV, aunque hasta el momento no se ha determinado su control genético (Leiva-Brondo et al., 2006; Pérez-Benlloch et al., 2001). La evaluación de la respuesta del pepino dulce a estas cuatro enfermedades y la búsqueda de fuentes de resistencia o tolerancia es de gran relevancia para el desarrollo de nuevos cultivares de pepino dulce. En particular, la identificación de accesiones con múltiples resistencias o tolerancias facilitaría la mejora de los programas de mejoramiento para desarrollar nuevos cultivares de pepino dulce con múltiples resistencias y/o tolerancias a estas principales enfermedades.

En este estudio, evaluamos la respuesta de una colección de accesiones de pepino dulce cultivadas y silvestres a FOL, VE, PepMV y ToMV con el objetivo de evaluar la amenaza que representan para el pepino dulce en las regiones mediterráneas e identificar nuevas fuentes de variación para el mejoramiento a estas enfermedades.

Materiales y Métodos

Se seleccionaron seis accesiones clonales del pepino dulce cultivado (*Solanum muricatum*), incluidas variedades andinas locales y cultivares modernos de diferentes lugares. Además, se eligieron nueve clones de siete especies de parientes silvestres del pepino (*Solanum* sección *Basarthrum*) de América Central y del Sur, además de un híbrido interespecífico entre pepino cultivado y un pariente silvestre (*S. muricatum* x *S. caripense*), para representar la diversidad del acervo genético del pepino dulce. (Blanca et al., 2007). Finalmente, se incluyeron en el estudio dos accesiones de tomate (*S. lycopersicum*) como controles susceptibles a los estreses bióticos evaluados. Los clones de pepino dulce se propagaron vegetativamente *in vitro* a partir de una planta madre individual por clon (Çavuşoğlu, 2013), mientras que los parientes silvestres se germinaron a partir de semillas siguiendo el protocolo de Ranil et al. (2015) y un individuo

por accesión se propagó clonalmente *in vitro* utilizando el mismo protocolo que para el pepino dulce. Luego de la aclimatación en una cámara climática con régimen de 16 h de luz (25 °C) / 8 h de oscuridad (18 °C) y humedad relativa del 65% al 95% (día y noche), los clones fueron trasplantados en la misma cámara climática a Macetas de polietileno de 8×8×6 cm rellenas con sustrato Neuhaus N3 (Klasmann-Dellmann GmbH, Geeste, Alemania). Simultáneamente se germinaron las accesiones de tomate y las plántulas se mantuvieron en cámara climática hasta su trasplante a macetas. Para cada experimento de inoculación de patógenos, las plantas se distribuyeron según un diseño completamente al azar, constituyendo cada planta una réplica.

La inoculación con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) y *Verticillium dahliae* (VE) se realizó, respectivamente, con aislados FOL raza 2 y VE raza 0 proporcionados por el Grupo de Estudio y Control de Variedades y Semillas (GEVES, Beaucauzé, Francia) y se cultivaron en medio Potato Dextrose Agar (PDA); Scharlab, Barcelona, España) a 24°C durante 10 d para FOL y 26 °C durante 25 d para VE.

La severidad de la enfermedad en cada planta inoculada se evaluó a los 7, 15, 21 y 30 DDI (Días Después de la Inoculación) según un índice de síntomas (IS) basado en una escala numérica de 0 a 4, donde 0 = ausencia de síntomas; 0,5 = síntomas leves; 1 = síntomas moderados; 2 = síntomas graves; 3 = síntomas muy graves; 4 = planta muerta (Atibalentja et al., 1997; Reis et al., 2004).

La inoculación con el virus del mosaico del pepino (PepMV) y el virus del mosaico del tomate (ToMV) se realizó, respectivamente, con el aislado de PepMV PV-0750 proporcionado por el Instituto Leibniz DSMZ-Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares (DSMZ, Braunschweig, Alemania), que se obtuvo de plantas infectadas de tomate recogidas en la región de Almería (España), y ToMV raza 0 proporcionado por GEVES.

La gravedad de la enfermedad se evaluó visualmente para cada planta individual a los 15, 30, 45 y 60 días después de la inoculación (DAI) siguiendo una escala de gravedad para el índice de síntomas (SI): 0 = ausencia de síntomas; 0,5 = síntomas leves que consisten en mosaico leve, planta recuperada en las hojas apicales; 1 = síntomas moderados caracterizados por intensificación de los primeros síntomas y moteado en las hojas; 2 = mosaico amarillo intenso y moteado en las hojas; 3 = lesiones moteadas y necróticas muy severas en tallos 4 = muerte de la planta. Se realizó un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (DAS-ELISA) en hojas nuevas jóvenes de cada planta para evaluar la presencia y el nivel de acumulación de virus.

La severidad de la enfermedad se utilizó para discriminar las accesiones en cuatro clases de reacción dependiendo del índice medio de síntomas máximos (MMSI), que se obtuvo promediando el valor máximo del índice de síntomas (SI) de cada planta en cualquiera de las fechas en las que se presentaron los síntomas. Se consideraron resistentes (R) las plantas con un MMSI = 0; aquellos con un $0 < \text{MMSI} \leq 0,5$ se consideraron tolerantes (T); aquellos con $0,5 < \text{MMSI} \leq 1,0$ se consideraron moderadamente tolerantes (MT); mientras que aquellos con $\text{MMSI} > 1,0$ se consideraron susceptibles (S).

Resultados

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* (FOL)

Los materiales cultivados de *S. muricatum*, a los 7 DAI se observaron síntomas leves en todas las accesiones, excepto en Mur2, que no presentó ningún síntoma (Figura 1). Sin embargo, desde los 15 DAI hasta el final del experimento a los 30 DAI no se observaron más síntomas en ninguna de las accesiones de *S. muricatum* (Figura 1). Así, excepto Mur6, que tuvo un MMSI de 1,15, los clones de pepino dulce podrían considerarse resistentes (en el caso de Mur2) o tolerantes (en el caso de las otras cinco accesiones) a FOL raza 2 (Cuadro 2).

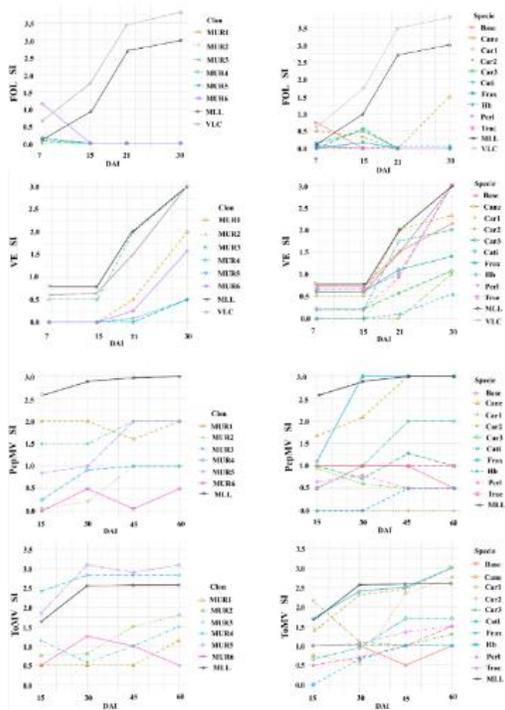


Figura 1. Evolución del índice de síntomas promedio (SI) a los 7, 15, 21, 30, 45 y 60 días de accesiones de pepino cultivado (izquierda) y parientes silvestres (derecha) más controles de tomate (MLL y VLC) después de la inoculación con FOL, VE, PepMV y ToMV.

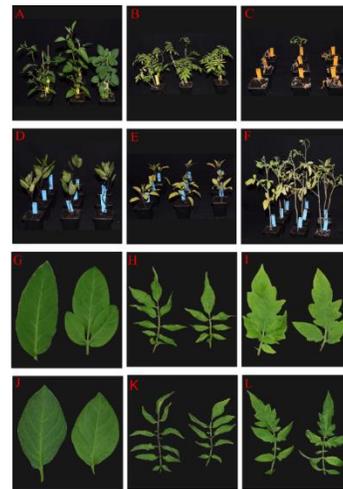


Figura 2. Síntomas foliares en plantas al final de cada experimento. A, B, C; plantas infectadas con FOL, plantas de adhesión Car2 que no muestran daño (A), clorosis generalizada en hojas de la accesión de caña (B), plantas muertas del tomate susceptibles de control MLL (C). D, E, F; plantas infectadas con EV, plantas de adhesión Mur5 que no muestran daño (D), clorosis folicular en hojas de la accesión Mur3 (E), clorosis generalizada en plantas de tomate del control susceptible VLC (F). G, H, I; plantas infectadas con PepMV, hojas de adhesión Mur6 que no muestran daño (G), aplastamiento en hojas de la accesión Frax (H), clorosis leve y aplastamiento en hojas del tomate susceptible control MLL (I). J, K, L; plantas infectadas con ToMV, hojas de adhesión de Hb que no muestran daño (J), rizo severo generalizado y clorosis en los extremos de las hojas de la accesión de Frax (K), rizo generalizado y clorosis en hojas de tomate del control susceptible MLL (L).

De los parientes silvestres del pepino dulce, dos de cada tres accesiones de *S. caripense*, Car1 y Car2, no desarrollaron ningún síntoma durante el experimento (Tabla 2 y Figura 2A). De manera similar, las accesiones de Trac, Cati, Perl, Frax y el híbrido Hb mostraron solo síntomas leves en respuestas a la infección por FOL, con valores de MMSI que oscilaron entre 0,05 y 0,5 (Tabla 2), y podrían considerarse tolerantes. Finalmente, Car3 y Bas exhibieron una gravedad moderada de la enfermedad, con valores de MMSI que oscilaron entre 0,57 y 0,75, lo que indica una tolerancia moderada contra FOL, mientras que Cane con un MMSI de 1,5 se clasificó como susceptible (Tabla 2).

Verticillium dahliae (VE)

La respuesta de las accesiones probadas de genotipos de pepino dulce y parientes silvestres varió considerablemente.

Al final del experimento, todos los clones alcanzaron niveles de síntomas más altos, con valores de MMSI que oscilaron entre 0,50 y 3,00 (Figura 1 y Tabla 2). Según los registros, tres de ellos (Mur2, Mur4 y Mur5) podrían considerarse tolerantes, siendo Mur2 y Mur4 los más prometedores ya que mostraron síntomas leves (0,50) solo a los 30 DAI (Figura 2D).

Con respecto a los parientes silvestres del pepino dulce, ninguna de las accesiones tuvo un mejor desempeño que los mejores clones de pepino dulce. De hecho, el mejor desempeño lo obtuvo Hb (0,55 a los 30 DAI). Sin embargo, la accesión Car2 de *S. caripense* mostró los síntomas más bajos entre los parientes silvestres, con valores de 1,00 MMSI, y podría considerarse moderadamente tolerante contra VE raza 0 (Tabla 2). El resto de las accesiones silvestres presentaron síntomas de moderados a severos y por lo tanto fueron clasificadas como susceptibles (Cuadro 2).

Tabla 2. Índice de síntomas máximo medio (MMSI, \pm SE) para la gravedad de los síntomas registrados en cualquiera de las fechas en que se realizaron mediciones (7, 15, 21, 30) días para FOL y VE y (15, 30, 45, 60) días para PepMV y ToMV, porcentaje de plantas con síntomas y clasificación de reacción para los patógenos evaluados en este estudio. Resistente (R), tolerante (T), moderadamente tolerante (MT) y susceptible (S).

Accession code	FOL			VE			PepMV			ToMV		
	MMSI	% of plants with symptoms	Reaction	MMSI	% of plants with symptoms	Reaction	MMSI	% of plants with symptoms	Reaction	MMSI	% of plants with symptoms	Reaction
<i>Cultivated</i>												
Mur1	0.15 \pm 0.08	100	T	2.00 \pm 0.00	100	S	2.00 \pm 0.00	100	S	1.15 \pm 0.08	100	S
Mur2	0.00 \pm 0.00	0	R	0.50 \pm 0.00	100	T	1.00 \pm 0.00	100	MT	1.80 \pm 0.08	100	S
Mur3	0.10 \pm 0.07	100	T	3.00 \pm 0.00	100	S	2.00 \pm 0.00	100	S	1.57 \pm 0.07	100	S
Mur4	0.06 \pm 0.06	100	T	0.50 \pm 0.00	100	T	1.00 \pm 0.00	100	MT	2.92 \pm 0.69	100	S
Mur5	0.15 \pm 0.08	100	T	0.50 \pm 0.00	100	T	2.00 \pm 0.00	100	S	3.15 \pm 0.24	100	S
Mur6	1.15 \pm 0.25	100	S	1.58 \pm 0.15	100	S	0.50 \pm 0.00	100	T	1.25 \pm 0.11	100	S
<i>Wild relatives</i>												
Car1	0.00 \pm 0.00	0	R	3.00 \pm 0.00	100	S	0.00 \pm 0.00	0	R	2.75 \pm 0.08	100	S
Car2	0.00 \pm 0.00	0	R	1.00 \pm 0.17	100	MT	0.95 \pm 0.27	100	MT	2.30 \pm 0.23	100	S
Car3	0.57 \pm 0.57	100	MT	1.07 \pm 0.17	100	S	1.28 \pm 0.09	100	S	1.00 \pm 0.00	100	MT
Trac	0.05 \pm 0.05	100	T	3.00 \pm 0.00	100	S	1.00 \pm 0.00	100	MT	1.50 \pm 0.00	100	S
Cati	0.50 \pm 0.00	100	T	2.00 \pm 0.00	100	S	2.00 \pm 0.00	100	S	1.70 \pm 0.08	100	S
Per1	0.10 \pm 0.07	100	T	3.00 \pm 0.00	100	S	0.79 \pm 0.18	100	MT	1.50 \pm 0.00	100	S
Base	0.75 \pm 0.08	100	MT	2.14 \pm 0.26	100	S	1.00 \pm 0.00	100	MT	1.00 \pm 0.00	100	MT
Cane	1.50 \pm 0.00	100	S	2.33 \pm 0.21	100	S	3.00 \pm 0.00	100	S	3.00 \pm 0.00	100	S
Frax	0.17 \pm 0.17	100	T	1.40 \pm 0.22	100	S	3.00 \pm 0.00	100	S	3.00 \pm 0.00	100	S
Hb	0.06 \pm 0.06	100	T	0.55 \pm 0.08	100	MT	0.50 \pm 0.00	100	T	1.00 \pm 0.00	100	MT
<i>Susceptible controls</i>												
MLL	3.80 \pm 0.20	100	S	3.00 \pm 0.00	100	S	3.03 \pm 0.07	100	S	2.69 \pm 0.09	100	S
VLC	3.10 \pm 0.46	100	S	3.00 \pm 0.00	100	S	-	-	-	-	-	-

Pepino mosaic virus (PepMV)

El comportamiento de los clones de pepino cultivados probados varió considerablemente entre las diferentes accesiones. Mientras que algunos clones a los 15 DAI no presentaron síntomas (Mur6) o muy leves, como Mur 2 (0,06) y Mur4 (0,25), el resto presentó síntomas leves (Mur 5 con 0,85) o severos (Mur3 con 1,50 y Mur1 con 2.00) (Figura 1 y Datos complementarios S1). Después de aumentar a los 30 DAI, los síntomas generalmente alcanzaron su máximo a los 45 DAI y se mantuvieron estables hasta el final del experimento (Figura 1). El MMSI más bajo se encontró en Mur6 con un valor de 0.50, seguido de Mur2 y Mur 4 con un valor de 1.00 y finalmente Mur3 y Mur5 con el MMSI más alto (2.00) (Tabla 2). Los resultados de estos síntomas siguieron los mismos patrones de los valores de MMA (Datos complementarios S2). De esta manera, los niveles de absorbancia de Mur6 fueron los más bajos con un valor de MMA de 0,30, seguido de Mur2 (1,43), Mur4 (1,61) y Mur3 (1,99), y finalmente Mur1 (2,28) y Mur5 (2,54) (Tabla 3). Teniendo en cuenta todos estos datos y también los normalizados, utilizando el

control susceptible para el índice de acumulación viral (Tabla 3), podríamos considerar a Mur6 como tolerante, y a Mur2 y Mur4 como moderadamente tolerantes a PepMV (Figura 2 y Tabla 2).

Los parientes silvestres mostraron un amplio rango de respuesta después de la infección con PepMV. La accesión Car1 y su híbrido Hb mostraron una buena respuesta contra este patógeno. De esta manera, Car1 no presentó ningún síntoma durante la prueba y pudo ser considerada como una accesión resistente, mientras que el Hb mostró síntomas leves solo a los 45 y 60 DAI con MMSI de 0,5 y fue clasificada como tolerante (Tabla 2). En general, la progresión de los valores de absorbancia (Figura 3) y los valores de MMA (Tabla 3) fueron consistentes con los de la progresión de los síntomas (Figura 1) y los valores de MMSI (Tabla 2).

Table 3. Mean maximum absorbance (MMA, \pm SE) at any of the dates where measurements were performed (15, 30, 45, 60) days for PepMV and ToMV, viral accumulation index and total percent of plants with systemic infection measured with DAS-ELISA for the viruses PepMV and ToMV after mechanical inoculation. Samples were considered infected (positive) when absorbance was greater than the threshold value of 0.174 for PepMV and 0.123 for ToMV.

Accession code	PepMV			ToMV		
	MMA	Viral accumulation index	Total % of plants with systemic infection	MMA	Viral accumulation index	Total % of plants with systemic infection
<i>Cultivated</i>						
Mur1	2.28 \pm 0.55	0.74	100	1.27 \pm 0.07	0.68	100
Mur2	1.43 \pm 0.37	0.47	100	1.12 \pm 0.15	0.60	100
Mur3	1.99 \pm 0.48	0.65	100	1.15 \pm 0.07	0.62	100
Mur4	1.61 \pm 0.42	0.52	100	1.11 \pm 0.34	0.60	100
Mur5	2.54 \pm 0.40	0.82	100	1.08 \pm 0.23	0.58	100
Mur6	0.30 \pm 0.10	0.10	100	1.44 \pm 0.04	0.77	100
<i>Wild relatives</i>						
Car1	0.28 \pm 0.04	0.09	100	1.54 \pm 0.21	0.83	100
Car2	1.51 \pm 0.45	0.49	100	2.04 \pm 0.07	1.10	100
Car3	0.44 \pm 0.10	0.14	100	1.85 \pm 0.10	0.99	100
Trac	1.63 \pm 0.51	0.53	100	1.76 \pm 0.08	0.94	100
Cati	3.22 \pm 0.14	1.04	100	2.18 \pm 0.07	1.17	100
Perl	1.63 \pm 0.50	0.53	100	2.18 \pm 0.06	1.17	100
Base	0.60 \pm 0.16	0.19	100	1.10 \pm 0.08	0.59	100
Cane	3.50 \pm 0.00	1.14	100	2.54 \pm 0.02	1.37	100
Frax	3.44 \pm 0.06	1.12	100	2.55 \pm 0.12	1.37	100
Hb	0.41 \pm 0.07	0.20	100	2.06 \pm 0.08	1.11	100
<i>Susceptible controls</i>						
MLL	3.08 \pm 0.34	1.00	100	1.86 \pm 0.08	1.00	100

Tomato mosaic virus (ToMV)

Todos los clones de pepino dulce alcanzaron valores de MMSI superiores a 1,00 y por lo tanto fueron considerados susceptibles a ToMV (Cuadro 2). Las grandes diferencias registradas para los síntomas no se observaron para la absorbancia y el índice de acumulación viral (Tabla 3). Durante todo el experimento, la diferencia en los valores de absorbancia entre los clones de pepino fue limitada y los valores de MMA oscilaron entre 1,08 de Mur5 y 1,44 de Mur6 (Tabla 3). Con respecto a los parientes silvestres, Se observaron mejores comportamientos para Car3, Base y Hb (MMSI de 1,00) y se consideraron moderadamente tolerantes (Tabla 2).

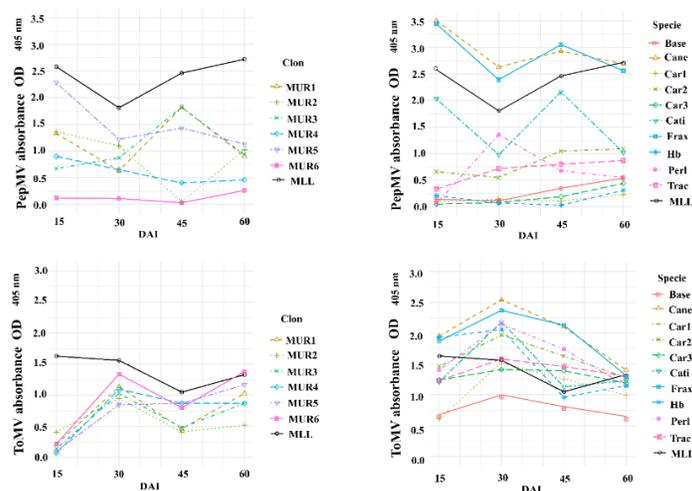


Figure 3. Evolution of mean absorbances of cultivated pepino (left) and wild relatives (right) accessions plus a tomato control (MLL) at 15, 30, 45 and 60 days after inoculation regarding PepMV and ToMV mechanical inoculation. Samples were considered infected (positive) when absorbance was greater than the threshold value of 0.174 for PepMV and 0.123 for ToMV.

Discusión

La selección de pepinos cultivados y especies silvestres relacionadas reveló que existe una amplia variación en la resistencia y tolerancia contra *Fusarium*, *Verticillium*, PepMV y ToMV. Los síntomas variaron mucho entre las muestras susceptibles y resistentes/tolerantes, lo que indica una progresión reducida de la enfermedad en las muestras resistentes/tolerantes. De acuerdo con la incidencia de la enfermedad, la mayoría de las accesiones de pepino cultivado y parientes silvestres fueron tolerantes o resistentes a *Fusarium*, la accesión Mur2 de pepino cultivado no presentó síntomas durante todo el ensayo, por lo que debe considerarse altamente resistente a *Fusarium* raza 2. Respecto a los parientes silvestres del pepino dulce, las accesiones Car1 y Car2 (*S. caripense*) tuvieron un buen comportamiento y no se observaron síntomas en todas las fases del experimento, por lo que también podrían considerarse

resistentes. En el ensayo de Verticilium, los genotipos de pepino dulce cultivados mostraron una mejor respuesta a la enfermedad en comparación con los parientes silvestres, presentando las accesiones Mur2, Mur4 y Mur5 síntomas leves que podrían considerarse tolerantes. Estos resultados sugieren que el pepino cultivado podría usarse en programas de mejoramiento en lugar de especies silvestres, evitando la incorporación de rasgos indeseables de especies silvestres debido al arrastre de ligamiento. (Prohens et al., 2017). Por otro lado, los resultados indican que cuando se inocularon plantas de diferentes genotipos con PepMV, solo la accesión silvestre Car1 fue resistente a la infección, mientras que la cultivada Mur6 fue tolerante. Estos resultados fueron confirmados mediante ensayos ELISA que fueron similares a los de los síntomas. Ninguna de las plantas inoculadas con ToMV fue resistente, a diferencia del trabajo reportado por Leiva-Brondo et al. (2006) quienes encontraron resistencia en plantas de pepino.

Conclusiones

Nuestros resultados sugieren que al hibridar materiales que se complementen entre sí en cuanto a resistencia o tolerancia a las cuatro enfermedades, puede ser posible desarrollar variedades de pepino dulce multirresistentes. Estos materiales pueden contribuir al desarrollo de variedades multirresistentes de pepino dulce y en consecuencia a la expansión de este cultivo en las regiones mediterráneas.

Referencias

- Çavuşoğlu, A. and Sulusoglu, M. (2013). *In vitro* propagation and acclimatization of pepino (*Solanum muricatum*). *Journal of Food Agriculture & Environment*, 11, 410–15.
- Herraiz, F. J., Vilanova, S., Andújar, I., Torrent, D., Plazas, M., Gramazio, P., & Prohens, J. (2015a). Morphological and molecular characterization of local varieties, modern cultivars and wild relatives of an emerging vegetable crop, the pepino (*Solanum muricatum*), provides insight into its diversity relationships and breeding history. *Euphytica*, 206(2), 301–318.
- Prohens, J., & Nuez, F. (1999). Strategies for breeding a new greenhouse crop, the pepino (*Solanum muricatum* Aiton). *Canadian Journal Of Plant Science*, 79(2), 269–275.
- Prohens, J., Leiva-Brondo, M., Rodríguez-Burruezo, A., & Nuez, F. (2002). “Puzol”: A facultatively parthenocarpic hybrid of pepino (*Solanum muricatum*). *HortScience*, 37(2), 418–419.
- Pérez-Benlloch, L., Prohens, J., Soler, S., & Nuez, F. (2001). Yield and fruit quality losses caused by ToMV in pepino (*Solanum muricatum* L.) and search for sources of resistance. *Euphytica*, 120(2)