



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR
INGENIERO AGRÓNOMO

**EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A *LEVEILLULA TAURICA* Y
NEMATODOS DEL GÉNERO *MELOIDOGYNE* EN
VARIEDADES COMERCIALES DE PIMIENTO DULCE
(*CAPSICUM ANNUUM*).**

AUTOR: ALEJANDRO MARTÍN CARA

Almería, Septiembre 2014

DIRECTORES: Dr. MANUEL JAMILENA QUESADA

Dr. FERNANDO JOSÉ DIÁNEZ MARTÍNEZ

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a mis tutores Dr. Fernando José diáñez Martínez y al Dr. Manuel Jamilena Quesada por haberme dado la oportunidad de realizar con ellos el que ha sido mi “ último tirón” para cerrar estos años de estudio. Agradezco también a la doctora Milagrosa Santos Hernández por su dedicación.

También quiero recordar a mis amigos y a toda aquella gente que a lo largo de todos estos años me ha apoyado y ha estado a mi lado.

Por último agradecer, como no podría ser de otra manera, a mi familia, a la que jamás encontrare la forma su apoyo y confianza incondicional, los cuales me han hecho fuerte en los momentos difíciles.

¡Muchas gracias!

ÍNDICE GENERAL

1. INTERÉS Y OBJETIVOS	8
1.1. INTERÉS	8
1.2. OBJETIVOS	10
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. EL CULTIVO DEL PIMIENTO (<i>Capsicum annuum</i>)	12
2.1.1. Descripción botánica y origen	12
2.1.2. Morfología de <i>Capsicum annuum</i>	13
2.1.3. Especies del genero <i>Capsicum</i> y posibles cruces para mejora vegetal	17
2.2 NEMATODOS.....	19
2.2.1. Morfología	19
2.2.2. Supervivencia de los nematodos en condiciones desfavorables.....	22
2.2.3.1. Ciclo biológico	23
2.2.3.2. Carasterísticas morfológicas	24
2.2.3.3. Especies más frecuentes en pimiento.....	26
2.2.3.4. Relación <i>Meloidogyne</i> - hospedante	26
2.2.4. Métodos de control de nematodos	26
2.2.5. Resistencia geéntica a nematodos del género <i>Meloidogyne</i>	27
2.3.1.Introducción.....	31
2.3.2. <i>Leveillula taurica</i>	31
2.3.2. Morfología de <i>Leveillula taurica</i>	31
2.3.3. Sintomatología	32
2.3.4. Condiciones de desarrollo e infección	34
2.3.5. Control de <i>Leveillula taurica</i>	35
2.3.6. Resistencia genética a <i>Leveillula taurica</i>	36
3. MATERIAL Y MÉTODOS	40
3.2. MATERIAL VEGETAL.....	40
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	41
3.3.1. Diseño experimental con nematodos del género <i>Meloidogyne</i>	41
3.3.1.1. Obtención de la fuente de inóculo	41
3.3.1.2. Extracción del inóculo.....	42
3.3.1.3. Preparación del material vegetal e inoculación	46
3.3.1.4. Desarrollo en cámaras de cultivo	47
3.3.1.5. Toma de datos.....	48
3.3.1.5.1. Índice de nodulación.....	48
3.3.1.5.2. Altura de la planta	49
3.3.1.5.3. Cantidad de hojas	50
3.3.1.5.4. Peso seco.....	50
3.3.1.5.5. Análisis estadístico del ensayo de nematodos	51
3.3.2. Diseño experimental con <i>Leveillula taurica</i>	52
3.3.2.1. Obtención del inóculo.....	52
3.3.2.2. Preparación del material vegetal e inoculación	53
3.3.2.4. Toma de datos.....	54
3.3.2.5. Análisis estadístico del ensayo de oidio.....	54
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
4.1. EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A NEMATODOS.....	56

4.1.1. Índice de nodulación	56
4.1.2. Altura de planta	57
4.1.3. Peso seco total	59
4.1.4. Peso seco de raíz	61
4.1.5. Peso seco del tallo	62
4.2. EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A LEVEILLULA TAURICA.....	64
4.2.1. Número de hojas por planta	64
4.2.2. Número de hojas amarillas	65
4.2.3. Número de hojas caídas.....	66
4.2.4. Número de hojas infectadas	67
4.2.5. Evolución de la enfermedad	68
5. CONCLUSIONES	71
6. BIBLIOGRAFÍA.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Zona de origen (color rojo) y zonas actuales de cultivo (color verde) de <i>Capsicum annuum</i> . Fuente: elaboración propia.....	12
Figura 2.- Plantas de pimiento tipo lamuyo (izquierda) y tipo california (derecha), Fuente: elaboración propia.....	13
Figura 3.- Raíz de pimiento. Fuente: Reche, 2010.	14
Figura 4.- Tallo de planta de pimiento tipo dulce italiano. Fuente: elaboración propia.	14
Figura 5.- Hoja de pimiento. Fuente: elaboración Propia.	15
Figura 6.- Flor de pimiento. Fuente: elaboración propia.	15
Figura 7.- Semillas de pimiento. Fuente: elaboración propia.	16
Figura 8.- Posibles cruces entre diferentes especies del género <i>Capsicum</i> . NG: los híbridos F1 Germinan con normalidad; EC: híbridos nacen mediante rescate de embriones; IV: se producen semillas pero F1 es inviable; PF: híbridos parcialmente fértiles; HF: híbridos con alta fertilidad; —: no es posible el cruce. Fuente: Organización de alimentación y agricultura de los Estados Unidos.	18
Figura 9.- Especies del género <i>Capsicum</i> más usadas en mejora genética de <i>Capsicum annuum</i> . A) <i>C. frutescens</i> , B) <i>C. chinense</i> , C) <i>C. baccatum</i> y D) <i>C. baccatum</i> var. <i>Pendulum</i> . Fuente: elaboración propia.	19
Figura 10.- Morfología general de un nematodo (Cedido por Santos , 2012).	20
Figura 11.- Ciclo biológico de <i>Meloidogyne</i> spp. (Cedido por Santos, 2012).....	24
Figura 12.- Hembra de <i>Meloidogyne</i>	25
Figura 13.- Diferencia entre variedades portadoras del gen N y variedades que carecen de dicho gen en un suelo infectado por nematodos del género <i>Meloidogyne</i> . Fuente: elaboración propia.....	30
Figura 14.- (A) Cleistotecio y micelio asociado. Barra = 250 μ m (B) Ascospora. Barra = 25 μ m. Fuente: Plant Health Progress article.....	32
Figura 15.- Sintomatología producida por <i>Leveillula taurica</i> en hojas de pimiento. Fuente: elaboración propia.....	33
Figura 16.- Defoliación producida por <i>Leveillula taurica</i> . Fuente: elaboración propia.	33
Figura 17.- Conidióforos de <i>Leveillula taurica</i> emergiendo de un estoma. Fuente universidad de California	34
Figura 18.- Plantas de la variedad Sv1215Pb de donde se obtuvo el inóculo de nematodos.....	42
Figura 19.- Método de Whitehead para la extracción de nematodos filiformes y móviles del suelo.....	43
Figura 20.- Triturado de raíces previo al batido para liberar los nematodos contenidos en ellas.....	44
Figura 21.- Pesado de raíces.....	44
Figura 22.- Lavado de raíces (a) y material de extracción (b).....	45

Figura 23.-	Conteo de huevos de nematodos del género <i>Meloidogyne</i>	46
Figura 24.-	Hembra de nematodo del género <i>Meloidogyne</i> (a) y estado juvenil (b) vistos al microscopio.	46
Figura 25.-	Inoculación de nematodos sobre plántulas de pimiento(a) y disolución con nematodos con 163,3 juveniles 49,5 huevos por 100 cc (b)	47
Figura 26.-	Plántulas de pimiento en cámara de cultivo.....	47
Figura 27.-	Índice visual de nodulación de Bridge y Page (1980) modificado.	49
Figura 28.-	Medida de la altura de la planta.	50
Figura 29.-	sobres con raíz y parte aérea de la planta preparados para el secado.	50
Figura 30.-	Estufa de secado donde las plantas se mantuvieron durante 48 horas a 70°C.....	50
Figura 31.-	Separación de sistema radical y parte aérea seca para proceder a su pesado.	51
Figura 32.-	Plantación de pimiento de la cual se obtuvo el patógeno <i>Leveillula taurica</i> utilizado para su posterior inoculación.	51
Figura 33.-	Hojas con presencia de <i>Leveillula taurica</i> utilizadas en la inoculación.....	52
Figura 34.-	Inoculación de <i>Leveillula taurica</i> mediante sacudida de hojas sobre la planta.	53
Figura 35.-	Diferencias de nodulación entre la raíz de una planta sin inocular (a), una planta de la variedad Capitán inoculada(b) y una planta de la variedad Acorde Inoculada (c).....	57
Figura 36.-	Diferencia de tamaño entre las plantas testigo de Capitán (a) y plantas testigo de Acorde (b).	59

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.-	Producción mundial de pimiento en los principales países productores. Elaboración propia a partir de datos FAOSTAT 2012.....	8
Gráfico 2.-	Producción de los principales cultivos de Almería. Fuente Cajamar 2013. .	9
Gráfico 3.-	Comparación de diferentes parámetros característicos de la incidencia de <i>Meloidogyne</i> en diferentes materiales vegetales a temperaturas de 24,28 y 32 °C. Fuente: Thies 1998.	29
Gráfico 4.-	Extensión de <i>Leveillula taurica</i> en la superficie de las hojas de pimiento dulce incubadas en cámaras de cultivo con diferencias de temperatura entre el día y la noche. Fuente: Elad et al. (2007).	35
Gráfico 5.-	Efecto de la temperatura en la germinación de las conidias de <i>Leveillula taurica</i> a humedad relativa del 85%.	35
Gráfico 6.-	Porcentaje de genotipos clasificados en función de su nivel de resistencia a <i>Leveillula taurica</i> . (a) 134 genotipos de <i>C. annuum</i> , (b) 28 genotipos de <i>C. chinense</i> y <i>C. baccatum</i> . Fuente: De Souza (2003).	37

Gráfico 7.- Índice de nodulación medio en las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	56
Gráfico 8.- Altura media de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	58
Gráfico 9.- peso seco medio total de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	60
Gráfico 10.- Peso seco medio de raíz de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	61
Gráfico 11.- Peso seco del tallo de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	63
Gráfico 12.- Número de hojas medio de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	64
Gráfico 13.- Número medio de hojas amarillas de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	65
Gráfico 14.- Número medio de hojas caídas de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	66
Gráfico 15.- Número medio de hojas infectadas por <i>Leveillula taurica</i> de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.	67
Gráfico 16.- Evolución del número de plantas de los diferentes tratamientos (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado) a lo largo del tiempo.	68

1.- INTERÉS Y OBJETIVOS

1. INTERÉS Y OBJETIVOS

1.1. INTERÉS

El cultivo de pimiento es uno de los cultivos hortícolas más importantes en el mundo con una producción mundial de 25 millones de toneladas siendo el principal productor China con el 56 % de la producción total seguido de México y Turquía. En la Unión Europea es España el principal productor de pimiento seguido de los Países Bajos y de Italia. Estados Unidos es otro país productor e importador de pimientos sobre todo de Holanda (Reche 2010).

País	Producción
China	16000000
México	2379736
Turquía	2072132
Indonesia	1656625
EE.UU.	1023700
España	650054
Egipto	500000
Nigeria	426566
Argelia	402109
Etiopía	372768
Túnez	345000
Países Bajos	302015
República de Corea	240776
Israel	207072
Italia	191351
Ucrania	189700

Gráfico 1.- Producción mundial de pimiento en los principales países productores. Elaboración propia a partir de datos FAOSTAT 2012.

La planta de pimiento para consumo en fresco es originaria de Centroamérica, de donde fue introducido en España tras el primer viaje de los colonizadores, allá por el año 1493. Desde España se fue extendiendo por toda Europa. Sus frutos en baya poseen una carne dulce, gruesa o delgada, según variedades, están huecos y se diferencian por su tamaño y por su color: verde, rojo o amarillo (Reche 2010).

En España el pimiento se cultiva sobre todo en los invernaderos del área mediterránea y, principalmente, en la provincia de Almería donde ocupa una superficie

de unas 8.500 has, cerca del 70 % de la superficie total nacional cultivada en invernadero para consumo fresco (Reche, 2010).

En Almería la producción de pimiento dulce representa el 20% de la producción hortícola total con 590516 t, siendo la segunda más alta detrás de la producción de tomate. En cuanto al valor económico, el cultivo de pimiento es el de mayor importancia con un valor de producción de 417041000 euros (Cajamar 2013).

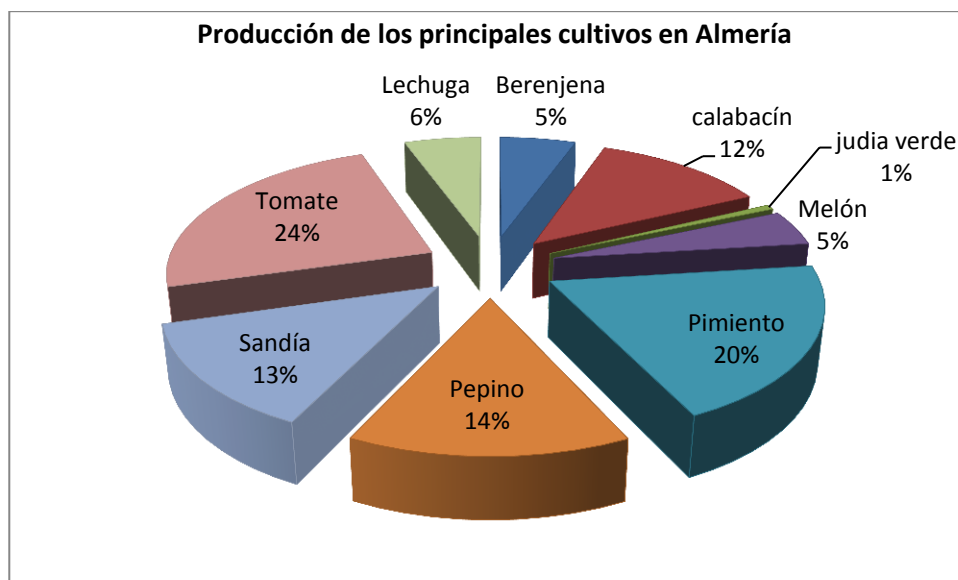


Gráfico 2.- Producción de los principales cultivos de Almería. Fuente Cajamar 2013.

La importancia económica de los nematodos es significativa, ya que su efecto puede representar una pérdida de producción que puede variar desde un 10-15% hasta una pérdida total de la cosecha si no se hace una gestión correcta del cultivo. En España, las pérdidas de producción por acción de los nematodos en los cultivos hortícolas pueden oscilar entre el 11% (Bello et al., 1996) y el 25-50% (Frapolli, 1994).

Ante la gravedad de los problemas fitonematológicos planteados y la dificultad de su control con alternativas químicas, es necesario encontrar alternativas no químicas que se adapten a las características agronómicas de cada área. En la actualidad los ciudadanos están exigiendo una agricultura respetuosa con el ambiente y la salud de los ciudadanos, lo que está derivando en un cambio en el enfoque de la producción agraria hacia nuevos modelos de gestión de los cultivos, en especial para el manejo de plagas y enfermedades (Castro, 2010).

Para el control de nematodos, el gen N, es un gen dominante que actúa de forma general contra tres especies del género *Meloidogyne* (incognita, arenaria y

javanica) confiriendo una resistencia intermedia que contribuye en gran medida al control de nematodos (Thies, 2002).

Leveillula taurica es el agente causal de la oidiopsis del pimiento, la cual constituye una de las principales enfermedades en este cultivo produciendo defoliaciones de la planta y detención de la producción. Para su control también existe un gen de resistencia asociado al gen L₃ que confiere una significativa tolerancia a dicho patógeno (Ferreira, 2004).

1.2. **OBJETIVOS**

Como objetivo general para desarrollar de este trabajo se ha establecido poner a punto un protocolo de inoculación y evaluación del desarrollo de la enfermedades causadas por *Leveillula taurica* y nematodos del género *Meloidogyne* en pimiento.

Como objetivos específicos se han establecido los siguientes:

- 1.- Evaluar el nivel de resistencia frente a *Leveillula taurica* de la variedad comercial *Capitán* perteneciente a la casa de semillas SUR SEEDS frente a variedades comerciales sensibles a dichos patógenos.
- 2.- Evaluar el nivel de resistencia frente a nematodos del género *Meloidogyne* de la variedad comercial *Capitán* frente a variedades comerciales sensibles a dichos patógenos.

2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. EL CULTIVO DEL PIMIENTO (*Capsicum annuum*)

2.1.1. Descripción botánica y origen

Capsicum annuum L. se identifica de esta forma (Reche 2010):

- Reino Plantae
- División Magnoliophyta
- Clase Dicotiledóneas cuyas semillas contienen un embrión con dos cotiledones.
- Subclase metaclamídeas, por tener flores con periantio doble y los estambres insertos en ella.
- Orden Tubifloras (gamopétalas) por tener sus pétalos soldados por la base.
- Familia de las Solanáceas al igual que la berenjena y tomate.
- Género *Capsicum*, especie *annuum*.

Desde muy antiguo se conoce el pimiento en México como un alimento para salsas y comidas a base de tomates y chiles. Los investigadores admiten que por la gran diversidad de especies silvestres encontradas en México pudo ser un centro importante de origen del pimiento (Nuez, 1996).



Figura 1.- Zona de origen (color rojo) y zonas actuales de cultivo (color verde) de *Capsicum annuum*. Fuente: elaboración propia.

2.1.2. Morfología de *Capsicum annuum*

Planta: Se cultiva como anual, aunque en condiciones adecuadas y previa poda puede rebrotar y dar cosecha en el siguiente año alargándose el ciclo dos años; aunque la nueva planta formada presenta, con frecuencia, brotaciones poco vigorosas y frutos de menor tamaño y calidad. Está constituida por un tallo principal de consistencia herbácea que después se lignifica y que a partir de dicho tallo principal, cuando alcanza la altura de unos 40 cm se bifurca en 2-3 ramas que a su vez se ramifican en forma dicotómica. En cultivo protegido debido al peso de los tallos, hojas y frutos necesita entutorado para sujetare y evitar que se tiendan en el suelo o se quiebren. Su altura puede llegar en cultivos al aire libre a un metro de altura y en invernadero fácilmente a 2 metros, todo en función de la variedad, época y condiciones climáticas (Reche 2010).



Figura 2.- Plantas de pimiento tipo lamuyo (izquierda) y tipo california (derecha), Fuente: elaboración propia.

Raíz: El sistema radicular del pimiento está formado, en un principio, a los 20 días de la germinación, por una raíz principal, pivotante, delgada con abundantes raicillas, rodeada de una gran cabellera de raíces secundarias y adventicias. La raíz adulta puede llegar a más de un metro de profundidad, según textura del suelo, predominando una fuerte y vigorosa raíz principal pivotante. En terrenos enarenados y riego localizado la profundidad de las raíces es menor. Dependiendo de la textura del suelo puede alcanzar 50-60 cm aunque el 75 % o más del volumen de raíces se localiza a menor profundidad, entre los 25-30 cm con una gran densidad horizontal de raíces que alcanzan una anchura de 50-75 cm (Reche 2010).



Figura 3.- Raíz de pimiento. Fuente: Reche, 2010.

Tallo: Es de crecimiento limitado o determinado, erecto, frágil, de epidermis brillante, con estrías, a veces, muy pronunciadas longitudinalmente y en otras variedades ligeramente estriadas, como así mismo ramificaciones, de 1,5 cm de grosor. De consistencia tierna al principio, lignificándose más tarde según se desarrolla pero no lo suficiente para mantenerse erguido como planta adulta y con muchos frutos, por lo que necesita tutores. Todas las ramificaciones parten del tallo principal que al llegar a una altura que coincide con la cruz, tras aparecer entre 10 y 12 hojas verdaderas y a los 25-30 días del trasplante se dividen en 2-3 brazos y estos a su vez de forma dicotómica tienden a bifurcarse, todo ello dependiendo del tipo de crecimiento y de la variedad cultivada. En otras variedades el crecimiento es diferente, los brotes laterales aparecen muy rápido, antes de la formación de la cruz, al mes de la plantación conformándose una planta con un tallo principal y ramificaciones laterales de igual grosor y longitud (Reche 2010).



Figura 4.- Tallo de planta de pimiento tipo dulce italiano. Fuente: elaboración propia.

Hojas: Nacen de forma alternada en el tallo, con pecíolo largo, lobuladas, enteras, lisas y con un ápice muy pronunciado o acuminado, insertas en los nudos del tallo, de color verde claro a verde oscuro y un limbo más o menos alargado que proporciona a la planta una gran superficie. El haz es glabro, liso y suave al tacto. El nervio principal simula a una prolongación del pecíolo y llega hasta el final del limbo. Las nerviaciones secundarias y paralelinervias entre sí forma ángulos de unos 40° con el nervio central que llega al borde de la hoja. Dependiendo de la variedad las hojas pueden ser más o menos lanceoladas, elípticas u ovals y de mayor o menos tamaño. El limbo de una hoja adulta mide unos 20 cm de largo, 11 cm de ancho con un pecíolo que alcanza 8-10 cm de longitud. Las hojas sirven a la planta para llevar a cabo las funciones de la respiración, transpiración y función clorofílica (Reche 2010).



Figura 5.- Hoja de pimiento. Fuente: elaboración Propia.

Flores: Las flores de pimiento son regulares y de corola tubulosa; hermafroditas al tener androceo y gineceo, solitarias, pequeñas, de 2-3 cm de diámetro completamente abiertas, dependiendo de las variedades, y de color blanco lechoso y pétalos puntiagudos de 1 cm de longitud desde la base y 4 mm de ancho. En variedades de frutos picantes pueden aparecer agrupadas en racimos de 2-5 flores. Están unidas a la planta por un pedúnculo con una longitud de 1-1,5 cm y 2 mm de grosor. Cáliz tubular de una sola pieza, de 0,5 cm de longitud y superficie rugosa que se endurece según va creciendo, con una prolongación rematada en cinco o más dientes pequeños y persistente en el propio fruto (Jurado y nieto, 2003).



Figura 6.- Flor de pimiento. Fuente: elaboración propia.

Frutos: El fruto del pimiento es una baya hueca no jugosa en forma de cápsula, en posición abatida, péndula o caída al estar el pedúnculo curvado, lo cual es una ventaja al protegerlos del Sol, de piel lisa, normalmente asurcada y de coloración verde al principio y amarillos o rojos al madurar. A veces, con depresiones y de variadas formas, tamaño y color. Tiene normalmente entre 2, 3 y 4 lóculos, de peso variable dependiendo de la variedad cultivada y de diferentes colores, del verde al rojo, pasando por el amarillo, con un ápice en punta, redondeado o hendido. Su base está formada por el cáliz soldado a la piel con o sin hombros. Una particularidad de los frutos del pimiento es que el pedúnculo parece prolongarse y penetrar en el interior del fruto formando el conjunto de la placenta y las numerosas semillas que la rodean y son la fuente principal, junto con los tabiques incompletos o pseudotabiques que lo dividen interiormente, de la mayor o menor concentración de capsicina, alcaloide responsable del picor de los frutos en las variedades picantes. Esta particularidad obliga durante la recolección a utilizar tijeras o cuchillo para cortar los Frutos y evitar desgarros. El grosor de la carne es mayor en los pimientos dulces que en los picantes para facilitar en estos últimos el secado o la deshidratación y la molienda. El pedúnculo del fruto mide entre 4-5 cm de largo y cerca de 1-1,5 cm de grosor (Jurado y Nieto, 2010).

Semillas. Amarillentas, de forma lenticular u oval, aplanadas, de superficie lisa, de tamaño y forma diversa constituidas por el endospermo, el embrión y la cubierta. Al mirar con lupa no presentan vellosidad y sí contornos redondeados, A las 48 horas de puestas a germinar tienen contorno liso y redondeado. Las semillas están separadas de la carne, concentradas en la parte más gruesa del fruto, insertas en una placenta cónica en forma de huso, unidas a una expansión o prolongación del pedúnculo que penetra en el cáliz (Reche 2010).



Figura 7.-Semillas de pimiento. Fuente: elaboración propia.

El número de semillas depende de la polinización y así mismo del tamaño del fruto. Un gramo contiene entre 150 y 200 semillas. En condiciones normales las semillas de pimiento deben de reunir estas condiciones (Reche 2010):

- Poder germinativo 70 %
- Pureza específica 98 %
- Facultad germinativa 3-4 años

2.1.3. Especies del género *Capsicum* y posibles cruces para mejora vegetal.

Según R.Mendoza (2000), estas son las siete principales especies de *Capsicum* cultivadas:

- *C. annuum* L. De corola blanca, flores solitarias, frutos de diferente forma, tamaño y color, de sabor dulce y picante. Es la especie de pimiento más cultivada en el mundo y de una gran importancia económica para muchos países, tanto los pimientos de sabor dulce como los de sabor picante.
- En la cuenca mediterránea los principales cultivos son sobre todo procedentes de variedades dulces. *C. frutescens* L. De corola blanca, dos flores por nudo. (ají picante).
- *C. baccatum* L. De corola blanca y frutos de forma variada.
- *C. pendulum* Willd (*C. peruvianum* Haz). De corola blanca, con partes amarillas y verdes, un fruto por nudo.
- *C. chinensi* Jack. Corola generalmente amarillenta o verdosa, frutos verdes rojos en la madurez y negruzcos al secar. De sabor picante.
- *C. macrocarpum* Cav. Corola diminuta y blanca, fruto pequeño, rojo y picante.
- *C. pubescens*. Corola violácea, frutos carnosos, verdes, rojos, ovals y esféricos, picantes y con semillas negras.

De todas ellas las más empleadas son: *annuum*, *frutescens*, *pendulum* y *pubescens*, estas dos últimas sólo cultivadas en regiones de Sudamérica. Además de *C. chinense* que han sido y se están utilizando todas ellas para la transferencia de genes en la mejora genética del pimiento dulce mediante los métodos de hibridación y retrocruzamiento (Reche 2010).

Los cruces que se pueden realizar según la organización de alimentación y agricultura de los Estados Unidos entre las diversas especies son los siguientes:

Parental masculino <i>Capsicum</i>	Parental femenino <i>Capsicum</i>										
	<i>baccatum</i>	<i>praetermissum</i>	<i>frutescens</i>	<i>chinense</i>	<i>annuum</i>	<i>galapagoense</i>	<i>chacoense</i>	<i>tovarii</i>	<i>pubescens</i>	<i>eximium</i>	<i>cardenasii</i>
<i>baccatum</i>	HF	PF	NG	NG	NG	—	NG	—	—	—	—
<i>praetermissum</i>	PF	HF	—	IV	IV	—	—	—	—	PF	—
<i>frutescens</i>	NG	—	HF	PF	NG	—	—	—	—	—	—
<i>chinense</i>	NG	NG	PF	HF	PF	—	NG	—	—	—	—
<i>annuum</i>	NG	IV	PF	PF	HF	IV	IV	—	—	—	—
<i>galapagoense</i>	NG	—	—	IV	NG	HF	EC	—	—	—	—
<i>chacoense</i>	IV	IV	—	NG	NG	—	HF	—	—	—	—
<i>tovarii</i>	NG	IV	IV	EC	—	—	IV	HF	—	NG	—
<i>pubescens</i>	IV	IV	EC	IV	—	—	IV	—	HF	HF	NG
<i>eximium</i>	NG	PF	NG	IV	IV	—	IV	NG	HF	HF	HF
<i>cardenasii</i>	NG	IV	NG	—	IV	—	IV	—	HF	HF	HF

Figura 8.- Posibles cruces entre diferentes especies del género *Capsicum*. **NG**: los híbridos F1 Germinan con normalidad; **EC**: híbridos nacen mediante rescate de embriones; **IV**: se producen semillas pero F1 es inviable; **PF**: híbridos parcialmente fértiles; **HF**: híbridos con alta fertilidad; **—**: no es posible el cruce. Fuente: Organización de alimentación y agricultura de los Estados Unidos.

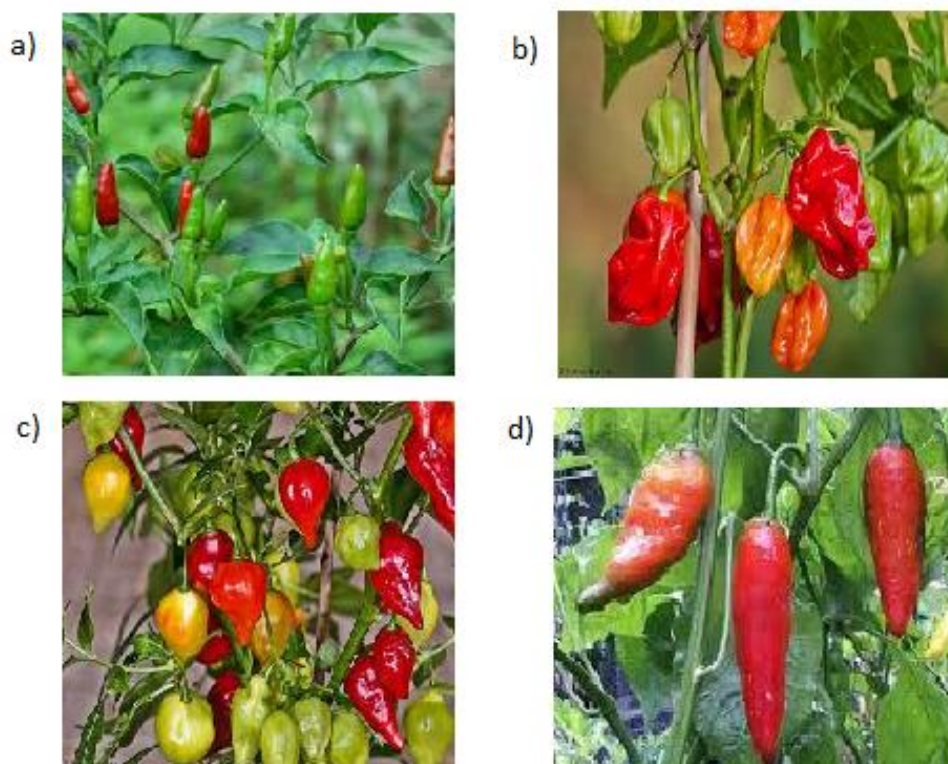


Figura 9.- Especies del género *Capsicum* más usadas en mejora genética de *Capsicum annuum*. A) *C. frutescens*, B) *C. chinense*, C) *C. baccatum* y D) *C. baccatum* var. *Pendulum*. Fuente: elaboración propia.

2.2. NEMATODOS

Los nematodos son de forma y tamaño variado, más o menos alargados, cilíndricos (vermiformes), otros son obesos o tiene forma de pera o limón. El tamaño medio de los nematodos vermiformes es aproximadamente un milímetro, por ello es difícil observarlos a simple vista, aunque se puede distinguir con facilidad los que forman quistes y los formadores de nódulos. Los nematodos transmisores de virus son normalmente de mayor tamaño, varios centímetros de longitud (Bello et al., 1996).

Los nematodos fitoparásitos se caracterizan por presentar un estilete, que es una especie de aguja hipodérmica, provista de un conducto interior, y una musculatura que permite que el órgano sea retráctil y que se pueda introducir dentro de la raíz y los tejidos de las plantas, para su alimentación (Bello et al., 1996).

2.2.1. Morfología

La forma más frecuente entre los nematodos migratorios es cilíndrica, alargada y atenuada en ambos extremos. Las formas sedentarias tienen generalmente el cuerpo esférico, aunque las formas juveniles y los machos son siempre vermiformes. La

apertura oral es terminal, el poro exterior, la vulva, el ano y la cloaca se hallan en posición lateral (Bello et al., 1996).

La pared del cuerpo en los nematodos está formada por varias capas, la externa es la cutícula. En la parte lateral algunos nematodos presentan pliegues delimitados por líneas longitudinales, que van de la región esofágica a la caudal. El conjunto de estos pliegues constituyen los campos laterales. El número de bandas y líneas que presentan los campos laterales tienen valor taxonómico (Bello et al., 1996).

La región cefálica se diferencia por la presencia de un armazón, esta puede ser continua o diferenciada en torno al cuerpo por una depresión, constricción o expansión, pseudolabios es el término que se utiliza para denominar a las seis elevaciones que elevan el disco labial de ciertos nematodos. El armazón cefálico posee una capa basal desde la cual se extienden prolongaciones más o menos largas hacia el interior del cuerpo, la prolongación central tiene forma de embudo y es la estructura guía del estilete. El estoma o cavidad estomática está limitado por una cutícula externa que se extiende desde el inicio del cuerpo hasta la base del cono del estilete. El estilete está formado por dos partes, la parte exterior denominada cono y la posterior, la base, que presenta tres engrosamientos denominados nódulos basales (Bello et al., 1996)

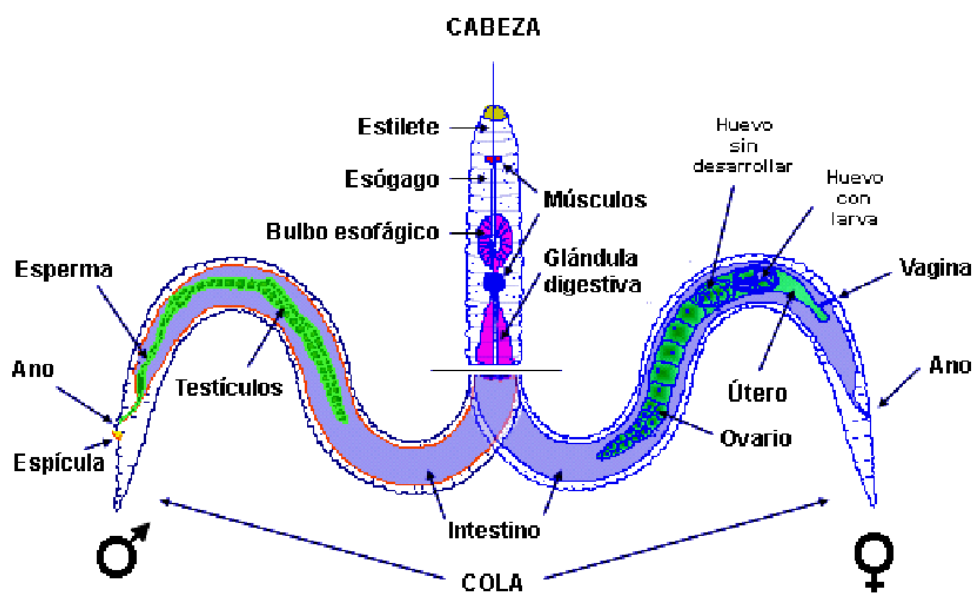


Figura 10.- Morfología general de un nematodo (Cedido por Santos , 2012).

El esófago es la región que sigue al estoma, es una estructura muscular cubierta por una cutícula y suele tener un lúmen estriado, en todos los tilenquidos el esófago tiene un corpus, istmo y glándulas esofágicas. El corpus está dividido en precorpus y postcorpus, el precorpus es cilíndrico y se extiende desde la base del estilete hasta el bulbo esofágico medio. El bulbo medio o postcorpus suele ser muscular de forma redondeada y presenta un aparato valvular, además presentan tres glándulas

uninucleadas una dorsal y dos subventrales. Las glándulas esofágicas pueden estar cerradas en una membrana formando un bulbo terminal o hallarse libres en la cavidad del cuerpo solapando al intestino en la región ventral o en la dorsal, en mayor o menor longitud. La forma, disposición relativa con respecto al intestino y su longitud se usan en la caracterización de las deferentes superfamilias y familias de nematodos, entre el esófago y el intestino se encuentra la válvula esofágica intestinal o cardia, que está alineada internamente con la cutícula del esófago. El intestino puede ser celular o sincitial, oligocítico o policítico si hay más, termina en el recto que se abre al exterior por el ano en las hembras y en cloaca en los machos (Bello et al., 1996).

El sistema excretor es asimétrico con una única célula situada en posición lateral o lateroventral generalmente en la región postesofágica, que se abre al exterior por el poro excretor, que se encuentra en la región medioventral. El conducto excretor está alineado con la cutícula externa, ocasionalmente puede ser ancho y hallarse cuticularizado (Bello et al., 1996).

El anillo nervioso se halla alrededor del istmo del esófago. Entre las comisuras nerviosas señalar el hemizonio que es la mayor comisura lateroventral situada cerca del poro excretor. El anfidio es una estructura par, quimiorreceptora que está situada en la región cefálica, generalmente cerca de la apertura oral. Los fasmidios son también estructuras quimiorreceptoras que se encuentran en la región caudal de los tilénquidos, aunque también pueden encontrarse en la zona preanal o no tener una posición fija en el cuerpo (Bello et al., 1996).

El aparato reproductor de la hembra consta de ovario, oviducto, crustaformera, espermateca, útero, vagina y vulva, si hay un solo ovario se denomina ovario monodélfico, dos ovarios didélfico. La vagina es la porción del tracto reproductor entre la vulva y el útero, que es fácilmente reconocible porque sus límites son cuticulares y están en contacto con la cutícula externa. El epiptigma es una estructura cuticular, membranosa situada en la vagina o en el labio vulvar, la vulva es un orificio generalmente oval orientado de forma perpendicular al eje del cuerpo y raramente redondo. La apertura vulvar es longitudinal o transversal, presenta dos labios generalmente iguales y la posición respecto a la longitud del cuerpo suele ser media o submedia. La posición de la vulva en el cuerpo, la presencia de membrana vulvar lateral y epiptigma son caracteres importantes en la diagnosis (Bello et al., 1996).

El aparato reproductor del macho tiene un solo testículo que puede ser recto o reflexo en la región anterior. Los espermatozoides se hallan dispuestos en una, dos o muchas filas, la bursa copulatrix o ala caudal es una expansión membranosa de las paredes de la región caudal del macho (Bello et al., 1996).

La espícula es una estructura quitinosa semejante al estilete que se desarrolla por ensanchamiento gradual e invaginación de las paredes de la bolsa espicular, es par y ventralmente curvada o arqueada (Bello et al., 1996).

El ensanchamiento de la pared dorsal de la bolsa espicular forma el gobernáculo, mientras que el telamón como parte del gobernáculo se desarrolla en la unión con la pared ventral de la cloaca. La forma, tamaño de la espícula y del gobernáculo, la presencia de telamón y la capacidad de proyectarse el gobernáculo son caracteres empleados en taxonomía (Bello et al., 1996).

La región caudal es la prolongación postanal del cuerpo, suele ser alargada, filiforme, cónica, conoide o hemisférica. La longitud y forma de la cola muestra una gran variación, puede ser diferente según la fase de desarrollo y si se trata de hembra o macho. Es frecuente observar en las formas endoparásitas sedentarias cola corta o ausente y juveniles con cola bien desarrollada. La cola del macho en las formas que no tienen bursa suele ser semejante a la hembra, por el contrario los que tienen bursa acostumbran a tener cola de conde a cónica, su principal función es ayudar en la locomoción, y también puede facilitar la copulación y la salida de los juveniles de la envuelta del huevo (Bello et al., 1996).

2.2.2. Supervivencia de los nematodos en condiciones desfavorables

Muchos de los nematodos fitoparásitos pueden sobrevivir por más de un año en el suelo en ausencia de su planta huésped. Durante este periodo su actividad se detiene y su metabolismo es muy bajo. Este periodo puede ser más o menos largo y está limitado por las reservas alimenticias que posea el nematodo y las condiciones del ambiente en que se encuentra. Los nematodos sobreviven más tiempo a bajas que a altas temperaturas (Frapolli, 1994).

Algunos nematodos, cuando las condiciones son desfavorables, pueden pasar al estado de “vida latente” y sobrevivir por más de veinte años, hasta que las condiciones favorables se restablecen y pasan de nuevo a “vida activa”. Durante el estado de vida latente muchos individuos mueren (Jiménez et al., 1965).

2.2.3. Nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*

El género *Meloidogyne* está formado por los denominados “nematodos formadores de nódulos”. Se trata de un grupo de nematodos del suelo de gran importancia económica, debido a que causan las pérdidas más significativas en la producción de diversos cultivos (Chitwood, 1949; Whitehead, 1968; Siddiqi, 2000), así

como la importancia de algunas especies en cuarentena en el cultivo de la papa (Bello et al., 2008). Estos nematodos son endoparásitos sedentarios que producen nódulos en las raíces. Tienen la capacidad de infectar las raíces de numerosas plantas con un rango de hospedadores que comprende más de 3000 especies vegetales diferentes (Abad et al., 2003), por lo tanto se pueden considerar en general como polífagos. El daño que ocasionan a los vegetales se debe principalmente a la alteración de los tejidos vasculares de la raíz, que reduce sustancialmente la absorción de nutrientes y agua, con el consiguiente debilitamiento de la planta y disminución del rendimiento (Orton Williams, 1972, 1973, 1974 y 1975; Siddiqi, 2000, Abad et al., 2003).

Para España se ha calculado que las pérdidas anuales ascienden a 905 millones de euros, de los cuales un 40% corresponde a las pérdidas en cultivos hortícolas. En segundo lugar están las pérdidas en cereales (21% de pérdidas), seguidas por las de frutales (14%), cítricos (10%) y papas (6%), con el porcentaje restante (9%) correspondido a remolacha azucarera, vid, olivo y leguminosas (Bello et al., 1997), por otra parte también se ha destacado su importancia en cítricos y frutales (Bello, 1983; Bello et al., 1985).

Los nematodos formadores de nódulos son endoparásitos sedentarios, cuyo síntoma más característico es que produce nódulos en los raíces de las plantas a las que parasitan, destacando su importancia en cuanto al daño que causan en cultivos hortícolas, industriales, ornamentales y frutales (Bello et al., 2000; Piedra Buena, 2004).

2.2.3.1. Ciclo biológico

El ciclo biológico de los nematodos del género *Meloidogyne* comienza en el huevo, donde aparece la primera de las cuatro fases juveniles (J_1). Dentro del huevo tiene lugar la primera muda, emergiendo como segundo estadio juvenil (J_2), el cual posee capacidad migratoria y puede penetrar en los tejidos de la planta (fase infectiva). El estadio J_2 tiene energía suficiente para permanecer al menos un mes en la búsqueda y penetración de la raíz, estableciendo un sitio de alimentación. Al penetrar en la raíz se mueve intercelularmente, ingresando a la altura de la base del cilindro vascular y migrando hacia arriba. En la zona de diferenciación de la misma se vuelve sedentario y establece un punto de alimentación permanente. Este punto de alimentación se forma en respuesta a las secreciones que el nematodo inyecta a las células del hospedante, las cuales inducen varias divisiones nucleares sin citoquinesis, dando lugar a células grandes, multinucleadas, llamadas "células gigantes" (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

Las células de la planta alrededor del lugar de alimentación se dividen e hinchan, lo cual se manifiesta externamente como nódulos (“agallas”). El nematodo ingiere el citoplasma de las células gigantes derivadas de la planta a través de sus estiletes, ya que estas células gigantes funcionan como fosas metabólicas que canalizan los recursos de la planta hacia el nematodo parásito. Posteriormente pasa por las dos fases juveniles restantes (J3 y J4) hasta convertirse en adulto. Tanto el estadio J2 como el adulto poseen un estilete, mientras que los estadios J3 y J4 pueden carecer de él (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

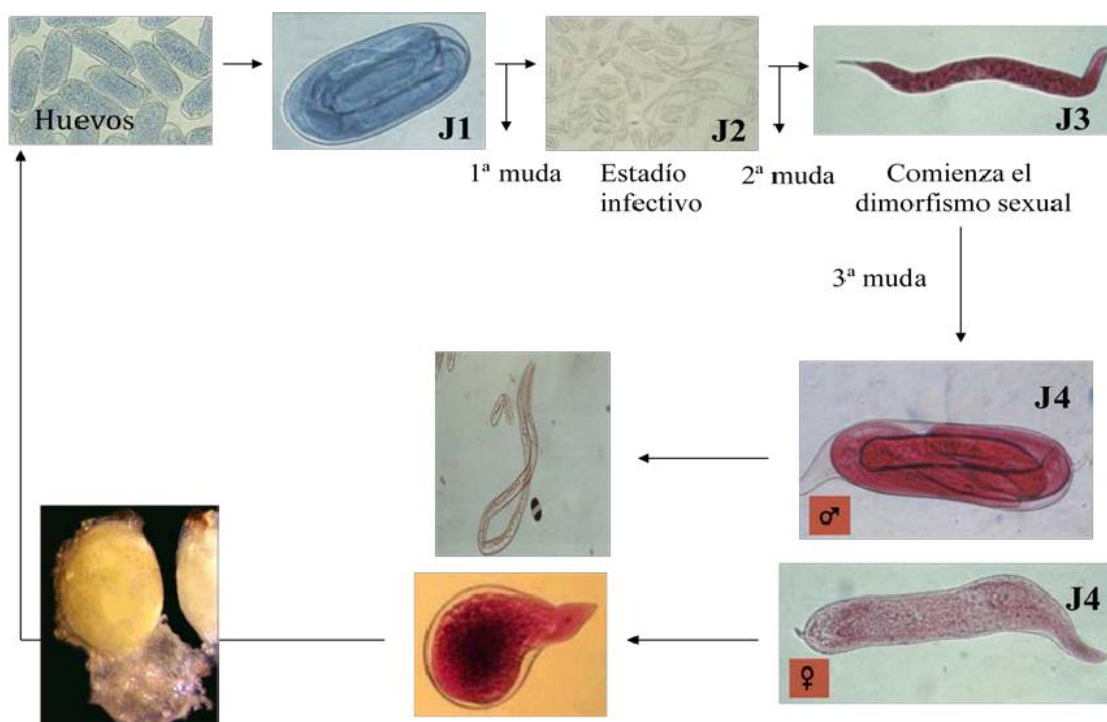


Figura 11.- Ciclo biológico de *Meloidogyne* spp. (Cedido por Santos, 2012).

2.2.3.2. Características morfológicas

Entre las características morfológicas del género *Meloidogyne* se señala que las hembras adultas son de formas redondeadas a piriformes, blancas, sedentarias, con un cuello corto que se proyecta, no tiene fase de quiste. En el extremo posterior la vulva y el ano están próximos, rodeados de un patrón cuticular característico (patrón perineal), que presenta diferencias en las distintas especies. Los fasmidios se abren con forma de poro, a cada lado del ano, levemente elevados. La cutícula es gruesa y estriada. El estilete es delgado, entre 12-15 μm , con nódulos basales pequeños. El poro excretor está por delante del bulbo medio, con frecuencia cercano a la base del estilete. Los ovarios son dos, prodélficos, convolutos. Las glándulas rectales son seis,

de tamaño grande, y segregan una sustancia gelatinosa en la cual se depositan los huevos, que no son retenidos dentro del cuerpo de la hembra (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

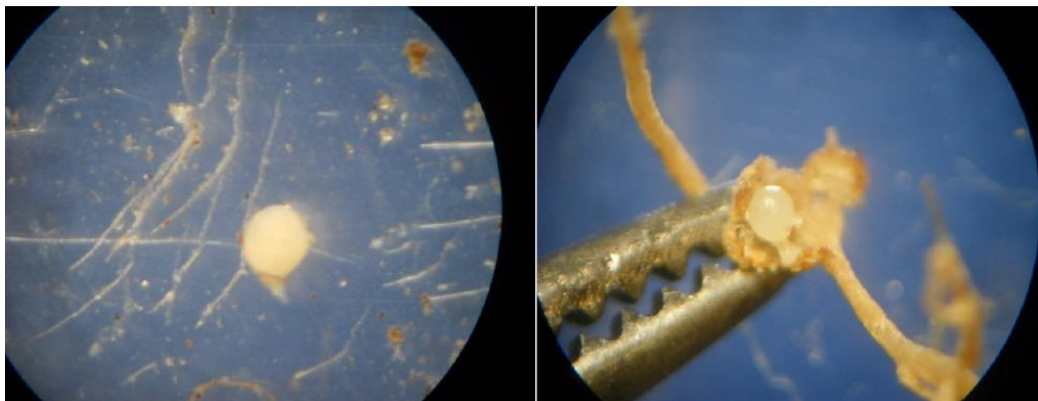


Figura 12.- Hembra de *Meloidogyne*.

El macho es vermiforme, de hasta 2 mm de longitud, con el extremo de la región posterior curvado. La cutícula es fuertemente estriada, con campos laterales con cuatro estrías longitudinales. La región labial es redondeada, poco prominente, con un disco labial marcado y pocas estrías (una a tres). Los sectores laterales son más anchos que los submedianos asemejándose a “mejillas”. El estilete es robusto (18-25 μm) con nódulos basales grandes. Las glándulas esofágicas están situadas principalmente en posición ventral. Las espículas son delgadas, generalmente entre 25-33 μm de longitud, con el gubernaculum entre 7-11 μm de longitud. Tiene un testículo, o dos si hubo un desarrollo sexual revertido. La región posterior es redondeada, con fasmidios como poros cerca de la abertura cloacal, que es subterminal. No presentan bursa (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

Los juveniles tienen diferente aspecto según el estadio. El J1 tiene el término de la región posterior roma, realizando la muda dentro del huevo. La segunda y tercera muda se realiza dentro de la cutícula del J2. El J2 es vermiforme, posee capacidad migratoria, siendo el estado infectivo. El cuerpo es recto a arqueado en reposo, midiendo por lo general menos de 0,6 mm de longitud. La región anterior es generalmente redondeada con uno a cuatro estrías gruesas, un disco labial diferenciado y una estructura levemente esclerotizada. Los sectores laterales son más anchos que los submedianos. El estilete es delgado, de menos de 20 μm de longitud. El poro excretor está por detrás del hemizónido. La región posterior tiene una porción hialina claramente visible, con la punta angosta e irregular en el contorno. El J3 es sedentario, hinchado con forma de “salchicha” y una región posterior corta y roma. El J4 también es sedentario e hinchado, con el ano terminal (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

2.2.3.3. Especies más frecuentes en pimiento

- *Meloidogyne arenaria*, (Neal, 1889) Chitwood, 1949.
- *M. incognita*, (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949.
- *M. javanica*, (Treub, 1885) Chitwood 1949.

2.2.3.4. Relación *Meloidogyne*-hospedante

Los nematodos del género *Meloidogyne* están altamente adaptados al parasitismo radicular, dependiendo del establecimiento de los puntos de alimentación especializados dentro de la raíz para su crecimiento y reproducción. Una vez establecidos, los nematodos tienen un suministro constante de agua y alimento desde el hospedante, así como la protección dentro del nódulo para la hembra y su progenie (Siddiqi, 2000).

Su alta adaptación se traduce en su capacidad de infectar más de 3.000 especies de plantas, incluyendo hortalizas, frutales, cereales y ornamentales (Abad et al., 2003).

Una vez que los nematodos endoparásitos entran en la planta, inducen la formación de “un punto para su alimentación”. Una vez inducido dicho punto de alimentación, el nematodo depende completamente de éste para su crecimiento y desarrollo. Si el punto de alimentación se vuelve no funcional, el nematodo por el cual se indujo la formación de la estructura para su alimentación morirá. Esta estrategia permite a los nematodos endoparásitos parasitar una amplia gama de especies vegetales, aspecto importante en agricultura que conviene estudiar mejor, para el manejo alternativo de los nematodos más persistentes (Goverse et al., 2000). Por otro lado se han señalado la interacción directa o indirecta de las secreciones glandulares de los nematodos endoparásitos sedentarios en las células vegetales (Hussey, 1989; Favery et al., 1998). Con el genoma nuclear vegetal, tema que todavía no se conoce totalmente, se ha destacado la importancia de conocer el perfil completo de los productos secretados por el estilete durante el ciclo parasitario como elemento clave para conocer su base molecular (Hussey et al., 2002).

2.2.4. Métodos de control de nemátodos

Reche (2010) expone las siguientes medidas:

Medidas preventivas y técnicas culturales

- Utilización de variedades resistentes o injertadas en patrones resistentes

- Combinando la solarización mediante láminas de plástico en el suelo y la biofumigación.
- Utilización de plántulas sanas

Control biológico

Se están utilizando preparados a base del hongo *Arthrobotrys irregularis* cuya acción depredadora se produce al penetrar en el cuerpo del nematodo, ramificándose en su interior.

Control químico

Como métodos preventivos es necesario la desinfección del suelo antes de la plantación y evitar su propagación por el agua de riego, aperos, labores. La primera aplicación se realizará cuando se observen los primeros síntomas localizados en dichos rodales. En parcelas con daños anteriores campañas es conveniente dar tratamientos preventivos.

Con los cultivos establecidos emplear:

- Oxamilo, aplicándolo en riego localizado
- Tetratiocarbamato de sodio. Puede emplearse en preplantación, o con el cultivo ya establecido. (Véase desinfección integral de suelos).

Sin cultivo: Aplicar los nematicidas fumigantes siguientes: Cloropicrina más dicloropropeno, dazomet, o con los nematicidas no fumigantes: Fenamifos, etoprofos, oxamilo, benfuracarb.

2.2.5. Resistencia genética a nematodos del género *Meloidogyne*

En *Capsicum annuum* existen cinco genes diferentes que confieren resistencia a *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*, siendo Me₁, Me₂ y Me₃ los genes mayores, así como que los cultivares de *C. annuum* obtenidos a partir de Yolo Wonder son portadores de dos genes complementarios Me₃ y Me₄ de resistencia a *M. incognita* y Yolo Wonder es portador del gen de resistencia Me₅ (López-Pérez, 2004).

Otra fuente de resistencia genética es el gen dominante N, procedente de Carolina Wonder el cual confiere resistencia a *M. Incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* (Thies, 2011).

Las células de las plantas que contienen genes de resistencia, reaccionan a la alimentación del nematodo mediante la muerte celular de las células infectadas y

adyacentes. De esta forma se previene la alimentación y reproducción del nematodo. Esta muerte celular programada, también llamada respuesta de hipersensibilidad, ocurre en las 12 horas siguientes a la infección (López-Pérez, 2004).

El gen N es el más frecuente en el cultivo de pimiento en el sureste español, estando presente en variedades comerciales como *Nirvin RZ* (Rijk zwaan) o *Capitán* (Sur Seeds). Pero este gen comienza a perder estabilidad y funcionalidad cuando la temperatura del suelo alcanza 28°C, llegando a ser considerable la incidencia de nematodos a temperaturas superiores a 32°C. Esto ocurre tanto en plantas que portan el gen en homocigosis como en plantas que poseen el gen en heterocigosis (Thies, 1998).

Thies (1998) realizó un estudio del comportamiento de dos cultivares portadores del gen N (Charleston Belle y Carolina Wonder) y de dos cultivares susceptibles (Key-Stone Resistant Giant y Yolo Wonder B) frente al género *Meloidogyne* a diferentes temperaturas. En este trabajo observó que el número de huevos de nematodos por gramo de raíz fresca (indicador de prolificidad), el número de J₂ (larvas en estado infectivo) y el número de nódulos en la raíz se incrementaba de forma significativa a medida que la temperatura ascendía de 28 a 32°C (Gráfico 3).

Thies (1998) también observó que el incremento en número de huevos, larvas J₂ e índice de nodulación era significativamente menor en los cultivares portadores del gen de resistencia N (Carolina Wonder y Charleston Belle) que en las variedades que no portaban dicho gen (Key-Stone Resistant Giant y Yolo Wonder B).

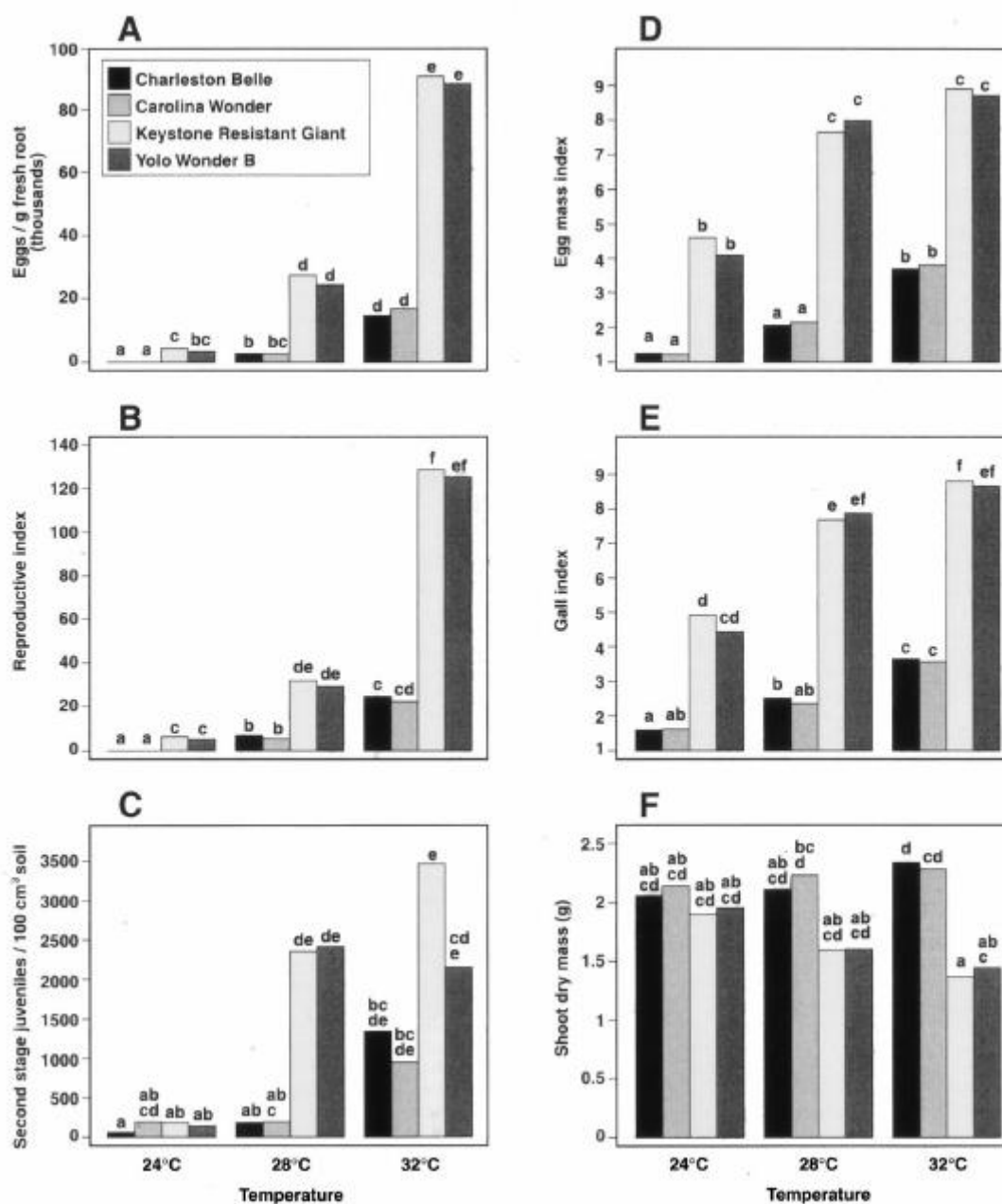


Gráfico 3.- Comparación de diferentes parámetros característicos de la incidencia de *Meloidogyne* en diferentes materiales vegetales a temperaturas de 24, 28 y 32 °C. Fuente: Thies 1998.

El uso de cultivares con genes de resistencia presenta como ventaja el ser una práctica eficaz, ambientalmente segura y no costosa. Permite mantener bajas las poblaciones de nematodos y reducir los periodos de rotación de cultivos, además de no necesitar técnicas especiales para su aplicación y pueden ser obtenidos con técnicas de mejora tradicional. Entre sus principales desventajas está la susceptibilidad frente a poblaciones virulentas, generalmente seleccionadas por el uso reiterado de variedades o patrones resistentes. Por tanto el uso de variedades resistentes sería válido en suelos donde las poblaciones de nematodos no son virulentas, pues de otro modo en un

mayor o menor periodo de tiempo pueden incrementarse las poblaciones virulentas y afectar a la resistencia de las plantas (Lacasa et al., 2002; Ros et al., 2004).



Figura 13.- Diferencia entre variedades portadoras del gen N y variedades que carecen de dicho gen en un suelo infectado por nematodos del género *Meloidogyne*. Fuente: elaboración propia.

2.3. LEVEILLULA TAURICA

2.3.1. Introducción

Los agentes causales de oidiopsis son parásitos biotróficos obligados que carecen de fase saprófita y por lo cual necesitan de un hospedador para su crecimiento y reproducción. Al ser parásitos obligados deben adaptarse constantemente al hospedador lo cual implica una alta especificidad patógeno-hospedador (Stadnik y Rivera, 2001).

La oidiopsis causada *Leveillula taurica* se asocia a más de 1000 especies de plantas, entre ellas el pimiento (*Capsicum annuum*) siendo uno de los principales problemas sanitarios que afecta a su cultivo bajo cubierta (De Souza y Café-Filho, 2003).

2.3.2. Morfología de *Leveillula taurica*

Leveillula taurica produce hifas clara y tabicado, formando un micelio blanco o gris claro. Las hifas dan lugar a conidióforos cortos, rectos y ramificados, de la cual se desarrollan los conidios, dispuestos en cadenas. Los conidios son hialinos, unicelulares, ligeramente rectangulares u ovales. Las hifas también forman haustorios, que son estructuras especializadas en la obtención de alimento de las células huésped. Los haustorios son hinchazones en las extremidades de las hifas que penetran dentro de las células y permiten que el hongo desarrolle una relación de parasitismo (Bergamin Filho et al., 1995).

En la etapa sexual o estado cleistotecial, los cuerpos fructíferos forman un micelio tipo cleistotecio. Los cleistotecios son cuerpos que corresponden al estado telomorfo del hongo y se encuentran en el envés de la hoja sobre la lesión necrosada ya sea cubriendo gran parte de ella o concentrándose en algunos puntos. Su forma de globosa y de color anaranjado cuando son jóvenes, cambiando a cóncava y color café oscuro al madurar. Externamente los cleistotecios están cubiertos por apéndices o fulcras muy cortas de tamaño y forma irregular (Fernández, 1990).

El micelio se caracteriza por ser septado, hiliano y de crecimiento intercelular desarrollándose principalmente en el envés de las hojas. El micelio es tanto epifítico como endofítico. (Fernández, 1990).

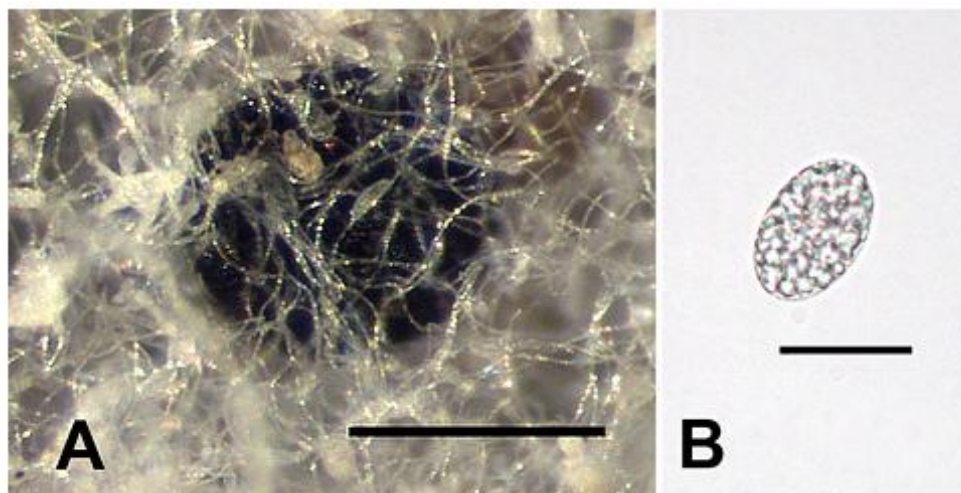


Figura 14.- (A) Cleistotecio y micelio asociado. Barra = 250 μm (B) Ascospora. Barra = 25 μm . Fuente: Plant Health Progress article.

Los conidióforos son largos y emergen a través de los estomas en grupos de 1 a 5 con 2 a 3 ramificaciones. También se forman a partir de micelio externo, siendo, en este caso, de menor tamaño. En el extremo de los conidióforos se forman las conidias las cuales se desprenden una vez maduras sin formar cadenas. Predominan principalmente dos tipos de conidias, las cilíndricas y las piriformes (Fernández, 1990).

2.3.3. Sintomatología

Los síntomas se observan como una mancha amarillenta difusa en el haz de la hoja, con proliferación de micelio en el envés. Generalmente las hojas más viejas son las primeras en enfermarse. Las hojas severamente afectadas se vuelven cloróticas, luego marrones y caen (Mitidieri *et al.* 2010). La caída de hojas es mayor a temperaturas inferiores a 20°C y superiores a 30 °C produciéndose menores caídas a 25°C (Elad *et al.* 2007). No está muy clara la razón de la caída de las hojas, la cual está atribuida a la producción de hormonas o del patógeno o de la planta hospedadora aunque ciertos autores creen que la abscisión de las hojas está producida por las auxinas o por la elevada actividad de isoenzimas de peroxidasa en el pedúnculo foliar (Ferreira, 2004).



Figura 15.- Sintomatología producida por *Leveillula taurica* en hojas de pimiento. Fuente: elaboración propia.

Si la enfermedad avanza puede producir una severa defoliación y quemado de frutos como consecuencia de la exposición de los mismos a los rayos solares. Los signos del patógeno se observan entre 18 y 21 días de iniciada la infección; el hongo crece entre las células del mesófilo y luego emite los conidióforos a través de los estomas en el envés de la hoja (Mitidieri *et al.* 2010).



Figura 16.- Defoliación producida por *Leveillula taurica*. Fuente: elaboración propia.

Leveillula taurica es un hongo endoparásito que se desarrolla de forma diferente a otros oidios ectoparásitos que se desarrollan en la superficie de la hoja. Parte de su ciclo de vida lo lleva a cabo dentro de la hoja. Después de la germinación de los conidios, el tubo germinativo crece en la superficie de la hoja hasta encontrar hasta encontrar un estoma a través del cual se introducirán en la planta. El micelio se observa con claridad en el envés debido a la mayor densidad de estomas (Elad *et al.* 2007).



Figura 17.- Conidióforos de *Leveillula taurica* emergiendo de un estoma. Fuente universidad de California

2.3.4. Condiciones de desarrollo e infección

Esta enfermedad se observa en condiciones de alta o baja temperatura (10 a 35 °C) y en climas secos o húmedos. Los conidios del hongo pueden germinar bajo cualquier condición de humedad relativa, aunque las condiciones óptimas son entre 85 y 95 % de HR y 15 a 25 °C de temperatura (Cerkaskas, 2004).

Leveillula taurica puede germinar con humedad relativa inferior al 50% aunque la germinación es menor. A temperaturas mayores de 30 °C las conidias reducen su germinación (Elad *et al.* 2007).

El desarrollo de la enfermedad es óptimo a temperaturas entre 20-25 °C y humedad relativa oscilante entre el 50-70% ya que aunque la humedad relativa óptima de germinación es de 85-95%, cuando se mantienen estas condiciones de temperatura, las lesiones y el desarrollo de la enfermedad se limitan (Elad *et al.* 2007).

Por otra parte Elad *et al.* (2007) observó como el mayor desarrollo de enfermedad se producía a una temperatura oscilante entre 15-20°C como se puede observar en el gráfico 4. También observo que el desarrollo óptimo de germinación en

cámaras de cultivo era óptimo cuando se mantenían condiciones de humedad relativa del 85-99% y temperatura de 20°C (gráfico 5).

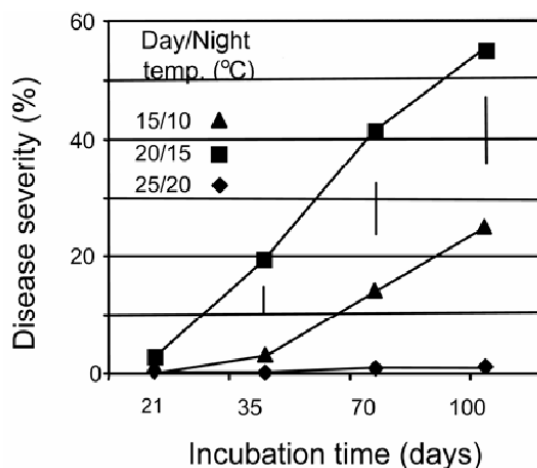


Gráfico 4.- Extensión de *Leveillula taurica* en la superficie de las hojas de pimiento dulce incubadas en cámaras de cultivo con diferencias de temperatura entre el día y la noche. Fuente: Elad *et al.* (2007).

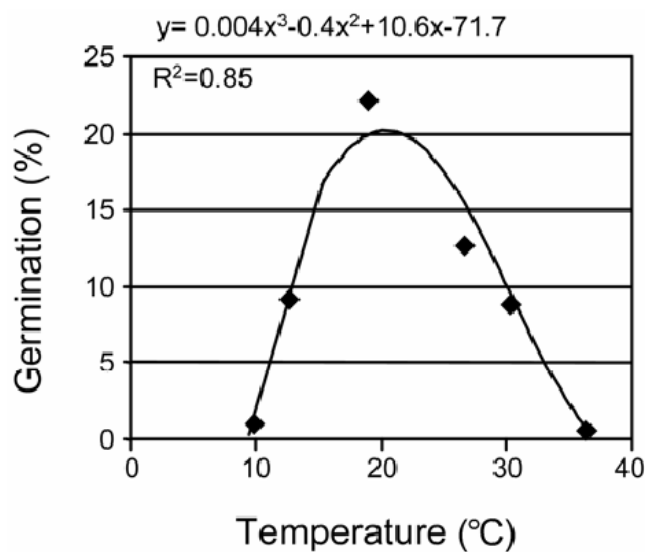


Gráfico 5.- Efecto de la temperatura en la germinación de las conidias de *Leveillula taurica* a humedad relativa del 85% Fuente: Elad *et al.* (2007)..

2.3.5. Control de *Leveillula taurica*

Reche (2010) distingue entre el control mediante medidas culturales y preventivas y el control químico:

Medidas preventivas y técnicas culturales:

- Utilización de variedades resistentes o tolerantes a las razas del patógeno
- Eliminar las malas hierbas y restos de cultivos
- Manejo adecuado de la ventilación y los riegos para evitar exceso de humedad
- Eliminación de las hojas viejas dañadas por el hongo

Control químico:

El inicio de los tratamientos se realizará cuando se observen los primeros síntomas en las plantas y se den las condiciones climáticas favorable para el desarrollo de la enfermedad. En explotaciones con daños en campañas anteriores es recomendable dar algún tratamiento preventivo. Es conveniente que el fungicida cubra bien las hojas basales de la planta.

Las materias activas autorizadas para producción integrada son Azoxistrobin(PI), azufre(PI), azufre más ciproconazol(PI), azufre más miclobutanil(PI), bupirimato(PI), ciproconazol(PI), flutriafol(PI), miclobutanil(PI), penconazol(PI), tebuconazol(PI), triadimenol(PI).

2.3.6. Resistencia genética a *Leveillula taurica*

La resistencia a *Leveillula taurica* es la capacidad del hospedador de evitar o retrasar la penetración del patógeno. Los hospedadores pueden reaccionar mediante hipersensibilidad, la síntesis de compuestos antimicrobianos o por la producción de cambios metabólicos en sus tejidos. La reacción de resistencia es un rasgo genéticamente heredable (Ferreira, 2004).

Los cambios en la resistencia a un patógeno pueden ser expresados de forma continua o discontinua a lo largo de una población segregante dependiendo del número de genes de resistencia involucrados (Ferreira, 2004).

Existen varios factores importantes para la caracterización de grupos de resistencia como puede ser la relación gen a gen (Flor 1948) que establece que para cada gen de resistencia del hospedador existe un gen de virulencia para el patógeno. La relación gen a gen establece la capacidad de las plantas de reconocer al patógeno invasor. Otro factor importante es el periodo de latencia, el cual determina el tiempo y velocidad de infección (cuanto mayor tiempo transcurra entre la infección y la

reproducción del patógeno, se producirán menos generaciones del patógeno y la tasa de infección será menor (Amorim, 1995).

Chander (1994) verificó en sus estudios que la actividad de la fenilalanina amonio-lisis (PAL), niveles de fenoles totales y flavonoides, así como la actividad de la peroxidasa estaban presentes en mayor proporción en materiales resistentes a *Leveillula taurica*.

Las fuentes de resistencia son principalmente *C. annuum*, *C. baccatum* y *C. chinense*. Entre estas especies existen numerosas accesiones que poseen algún tipo de resistencia a *Leveillula taurica* aunque estas accesiones son mucho más numerosas en *C. baccatum* y en *C. chinense* que en *C. annuum* (Ferreira, 2004) tal y como se observó De Souza (2003) (Gráfico 6). Las mejores fuentes de resistencia han sido encontradas en *Capsicum chinense* y *Capsicum baccatum* ya que las fuentes de resistencia encontradas en *C. annuum* no presentan una resistencia parcial por lo cual no son satisfactorias (Shifriss et al., 1992).

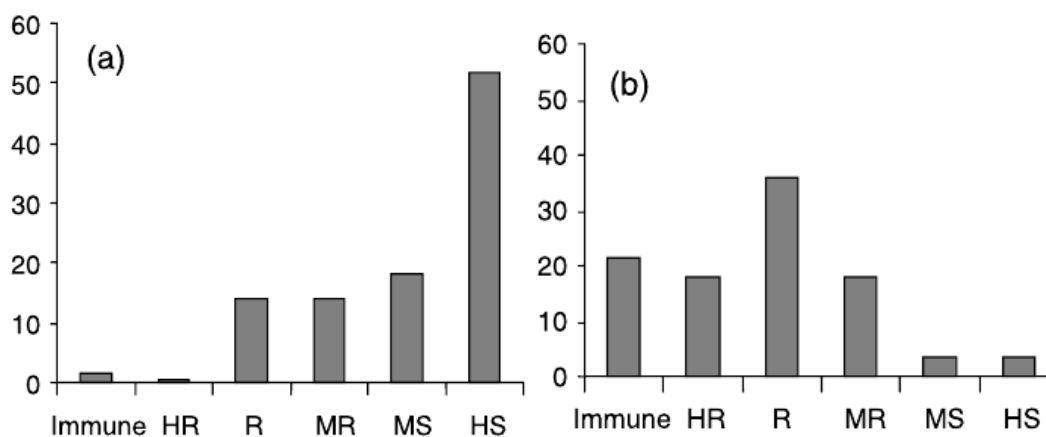


Gráfico 6.- Porcentaje de genotipos clasificados en función de su nivel de resistencia a *Leveillula taurica*. (a) 134 genotipos de *C. annuum*, (b) 28 genotipos de *C. chinense* y *C. baccatum*. Fuente: De Souza (2003).

Entre los materiales vegetales resistentes existen dos tipos de resistencias, una de ellas es la resistencia a la penetración del patógeno y resistencia a la abscisión foliar, presente en la accesión Hv-12 de *Capsicum annuum*; el otro tipo de resistencia es la reacción de hipersensibilidad, presente en el resto de accesiones de *C. annuum*, *C. baccatum* y *C. chinense* (Ferreira, 2004).

La herencia de la resistencia a oidio es poligénica. Al menos 4 pares de genes gobiernan dicha resistencia en *C. annuum* y de 2 a 6 pares de genes en *C. baccatum*. *C. chinense* también posee una resistencia poligénica. En *C. baccatum* y *C. chinense* se producen variaciones aditivas entre genes, dominantes y epistáticas. En *C. annuum* la resistencia viene determinada por genes recesivos (Ferreira, 2004).

Ferreira (2004) también observó que los progenitores en *C. annuum* presentaban diferentes expresiones y mecanismos de resistencia mientras que esto no ocurría en *C. baccatum* ni en *C. chinense* donde los mecanismos de resistencia son similares presentando alelismo entre las fuentes.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACION DEL ENSAYO

El ensayo se realizó durante la campaña de primavera del año 2014 sobre plantas de pimiento dulce (*Capsicum annuum*).

Para realizar dicho ensayo se precisaron de los laboratorios de producción vegetal de la UAL, donde se encuentra todo el instrumental necesario para proceder a la realización de la toma de datos sobre las plantas de pimiento. Además para el desarrollo de las inoculaciones sobre plantas se usaron dos cámaras fitotrones pertenecientes a los servicios técnicos de la universidad de Almería. En las mismas se podían controlar las condiciones de humedad y temperatura, seleccionando las condiciones más favorables para el desarrollo de las enfermedades causadas por *Leveillula taurica* y por los nematodos género *Meloidogyne* en sustratos.

3.2. MATERIAL VEGETAL

El material vegetal sobre el que se realizó el ensayo fueron tres variedades de pimiento tipo california rojo:

- ✓ **Acorde**, variedad perteneciente a la empresa Rijk Zwaan que se caracteriza por ser un pimiento tipo California de maduración en rojo de gran calidad de fruto para trasplantes de principios a finales de Julio, en invernadero. Frutos de peso entre 200 y 260 gramos principalmente, muy resistentes al cracking y al star cracking. Planta de porte abierto, que no necesita destalle. Fruto de cuatro cascotes muy homogéneo y muy consistente, bien desarrollado en los meses de invierno. Posee los genes de resistencia L₃ y TSWV.

- ✓ **Azahar**, variedad perteneciente a la empresa Clause Tezier, que se caracteriza por ser una variedad de pimiento california rojo para siembras tempranas, a partir del 1 de Junio y hasta el 15 de Julio, que presenta una planta uniforme y con muy buen cuaje con calor. Posee un fruto cuadrado y calibre G, excelente color en verde y rojo, con una elevada producción final. Ausencia casi total de silverelinas. Posee los genes de resistencia L₄ y TSWV.

- ✓ Capitán, variedad perteneciente a la empresa Sur Seeds, caracterizada por ser una variedad para plantación temprana (desde 20 de junio a 20 de julio). La planta es abierta, de vigor medio pero con raíz muy fuerte, con excelente producción y alta homogeneidad en calibre (G-GG). Posee un comportamiento excepcional frente a fisiopatías del fruto, tales como: silverelinas o plateado, manchitas de sobremaduración, estrella en base del fruto (cicatriz pistilar), microcracking, etc. Posee resistencia L4 a virosis de pimiento, resistencia a TSWV, y tolerancia a nematodos (Género *Meloidogyne*, gen de resistencia N), resistencia intermedia (RI) a *Leveillula taurica*.

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3.1. Diseño experimental con nematodos del género *Meloidogyne*

Para este ensayo se utilizaron plantas portadoras del gen de resistencia N (variedad *Capitán*) y plántulas que carecían de dicho gen (variedad *Acorde Rz*) de manera que se utilizaron 48 plántulas de cada variedad, de las cuales 24 fueron inoculadas y las otras 24 fueron utilizadas como testigo, usándose un número total de 98 plantas entre ambas variedades. Una vez preparadas las plantas, estas fueron introducidas en cámaras fitotrones para permitir un desarrollo adecuado durante 60 días para por último proceder a la toma de datos de aquellos parámetros interesantes desde el punto de vista de este ensayo ((índice de nodulación, longitud de planta, número de hojas, peso seco de la parte aérea, peso seco de la raíz y peso seco total).

El objetivo como ya ha sido comentado en interés y objetivos, consistió en evaluar la resistencia del gen N frente a nematodos del género *Meloidogyne* para poder identificar las diferencias fenotípicas entre variedades que portan dicho gen y variedades que no lo poseen y así poder crear un protocolo que permita introducir e identificar dicho gen en programas de mejora genética de pimiento dulce.

3.3.1.1. Obtención de la fuente de inóculo

Para la obtención del inóculo se procedió a la visita de plantaciones con problemas de nematodos del género *Meloidogyne* situadas en el campo de Dalías (El Ejido) buscando plantas que solo presentaran síntomas de dicho patógeno y no de otros como puede ser *Phytophthora capsici*, muy común en plantaciones de pimiento del campo de Dalías.

Las variedades de las cuales se obtuvo el inóculo fueron Sv1215Pb (Monsanto) y Capitán (Sur Seeds) ambas situadas en la misma plantación.



Figura 18.- Plantas de la variedad Sv1215Pb de donde se obtuvo el inóculo de nematodos.

Para obtener el inóculo de la explotación, se procedió a arrancar las raíces junto con toda la tierra del bulbo húmedo que envuelve a estas para de esta manera poder obtener nematodos en todos los estadios de desarrollo.

Una vez obtenido el inóculo se procedió a la reproducción de este sobre plantas de pimiento sensibles para de esta manera poder asegurarnos de que la fuente de inóculo usada para el desarrollo de este proyecto estaba exenta de otros patógenos que pudiesen haber perjudicado el desarrollo experimental y dado lugar a una mal interpretación de los resultados obtenidos.

3.3.1.2. Extracción del inóculo

Previamente a la extracción de los nematodos las muestras se deben tamizar y homogenizar en el laboratorio rompiendo los terrones y grumos del suelo con cuidado. En el caso de que el suelo esté muy húmedo se puede secar ligeramente al aire o con la ayuda de un ventilador.

Se tamiza el suelo sobre un plástico o bandeja a través de un cedazo con apertura de maya de 3 - 4 cm para eliminar piedras y restos vegetales. El suelo tamizado se homogeniza mecánica o manualmente. Se extiende la muestra de suelo sobre una superficie de plástico o bandeja y con una espátula o cuchara se toman al azar pequeñas porciones de suelo hasta completar la cantidad requerida para la submuestra en un recipiente. Es importante tomar las porciones de suelo de toda la superficie de la muestra.

Para obtener una mayor probabilidad de éxito en la obtención de nematodos, el proceso de obtención se dividió en la obtención de nematodos filiformes y móviles en el suelo y en la obtención de huevos presente en las hembras no móviles situadas en el interior de la raíz.

Para la extracción de nematodos filiformes y móviles del suelo se usó el **Método de Whitehead** el cual se basa en la capacidad de los nematodos de migrar del suelo al agua a través de un filtro y tiene la ventaja de ser un método sencillo (Figura 19), no requerir ningún equipamiento específico y puede emplearse fácilmente sin la necesidad de conocimientos técnicos en el manejo de aparatos de laboratorio. Permite realizar extracciones con volúmenes de suelo entre 100 y 500cc. Se siguen los siguientes pasos:

1- Se coloca la muestra de suelo sobre un filtro de algodón con celulosa sostenido por un tamiz de 0,5-2mm de apertura de malla.

2- El tamiz con la muestra de suelo se encaja en la bandeja y se añade agua entre la bandeja y el tamiz hasta que el nivel de agua contacte con la parte inferior del tamiz. Asegurarse que nivel de agua es suficiente para humedecer el suelo.

3- Se dejan durante un mínimo de 48 a 72 horas, para permitir la migración de los nematodos. El tamiz con el suelo debe estar siempre en contacto con el agua para evitar la desecación de la muestra.

4- Al final del período establecido se levanta el tamiz y se deja escurrir sobre la bandeja, se recolecta la suspensión de nematodos acumulados en el agua de la bandeja y se llevan a una placa de Petri para su observación en lupa y microscopio, identificación y recuento.



Figura 19.- Método de Whitehead para la extracción de nematodos filiformes y móviles del suelo

Para la obtención de hembras y de huevos de nematodos, se procedió al lavado de raíces (del agua obtenida se obtuvieron nematodos móviles mediante el Método de Whitehead) y seguidamente al triturado de estas para liberar las hembras de *Meloidogyne* y sus huevos.

Este método se utiliza principalmente para estimar el número de hembras y estadios J3 y J4 de *Meloidogyne* existentes en el interior de las raíces, así como los huevos que *Meloidogyne* deposita en una masa gelatinosa ubicada en la parte posterior de su cuerpo (Hussey y Barker, 1973). La lejía o el hipoclorito sódico disuelve la masa gelatinosa que aglutina los huevos, pero también es letal para los mismos, por lo cual el tiempo de exposición es crítico y no debe exceder los 4 minutos para evitar la desintegración completa de los nematodos. Por ello se recomienda usar una solución de lejía al 0,5% cuando se quiere obtener nematodos vivos y (una solución de lejía) al 1 por ciento cuando se quieren obtener nematodos muertos para recuentos.

- 1- Se coloca una muestra de 5-10g de raíces cortadas y mezcladas en una batidora-licuadora.



Figura 20.- Triturado de raíces previo al batido para liberar los nematodos contenidos en ellas.



Figura 21.- Pesado de raíces.

2- Se agregan 200 ml de solución de hipoclorito sódico al 0,5% o al 1% y se bate a la velocidad mínima del aparato durante 3 minutos.

3- Se bate de nuevo durante 30 segundos a la velocidad máxima. Se lavan las paredes de la licuadora y se bate durante 30 segundos más.

4- Se vierte la suspensión sobre 2 tamices superpuestos colocando la parte superior del tamiz de 150 μ m de apertura de malla y en la inferior el de 20 μ m. Si se quiere mejorar la eficiencia de recuperación es recomendable un tamiz de menor apertura de malla.

5- Se enjuagan los dos tamices por separado. El material recolectado en el tamiz de 150 micrómetros (sé que) contendrá a las hembras, J3 y J4, mientras que el recolectado en el tamiz de 20 μ m contendrá J2 y huevos.



Figura 22.- Lavado de raíces (a) y material de extracción (b).

Tras la obtención del “caldo “de inóculo, y conteo en placa Petri se obtuvieron 163,3 juveniles 49,5 huevos/ 100 cc de caldo.

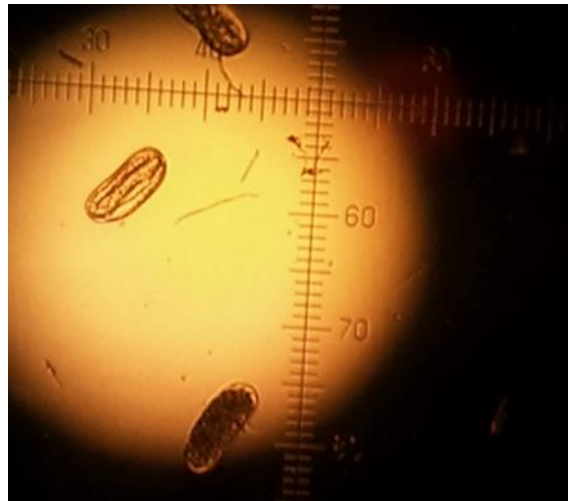


Figura 23.- Conteo de huevos de nematodos del género *Meloidogyne*.

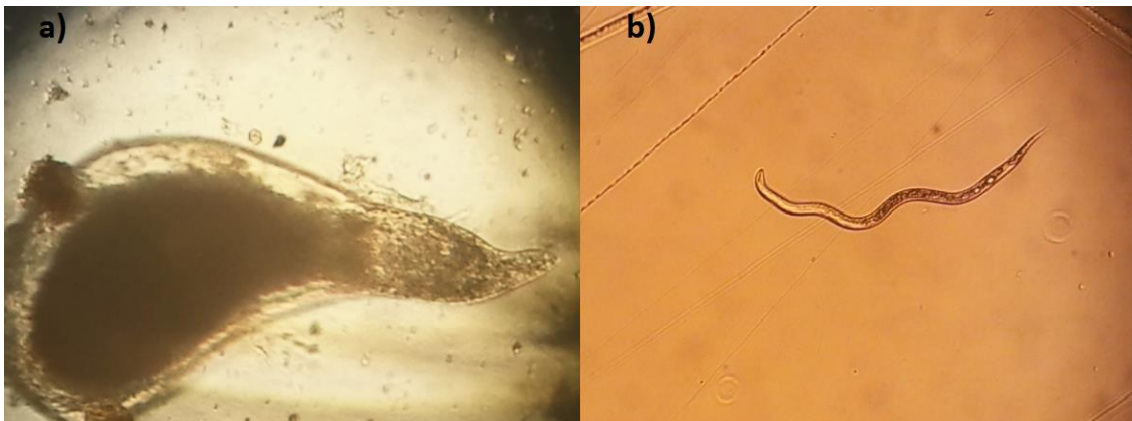


Figura 24.- Hembra de nematodo del género *Meloidogyne* (a) y estado juvenil (b) vistos al microscopio.

3.3.1.3. Preparación del material vegetal e inoculación

Las 24 plántulas de cada tratamiento (*Capitán* inoculado, *Capitán* testigo, *Acorde* inoculado y *Acorde* testigo) fueron plantadas con 20 días de edad en maceteros de 0,5l de volumen usando turba como sustrato.

Una vez plantadas las plántulas se procedió a la inoculación con 100 cc de agua con juveniles y huevos, es decir se inocularon aproximadamente 165 juveniles y 50 huevos por plántula y seguidamente se llevaron a cámara.

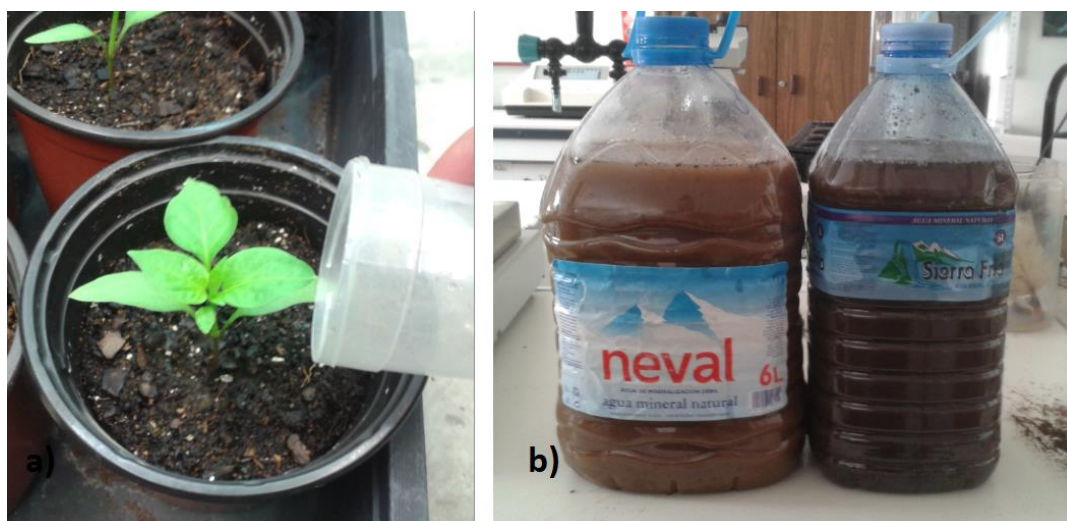


Figura 25.- Inoculación de nematodos sobre plántulas de pimiento(a) y disolución con nematodos con 163,3 juveniles 49,5 huevos por 100 cc (b)

3.3.1.4. Desarrollo en cámaras de cultivo

El desarrollo de plantas se realizó en cámaras de cultivo pertenecientes a los servicios técnicos de la Universidad de Almería. En estas cámaras se mantuvieron condiciones de humedad y temperatura controlada para permitir un correcto establecimiento y control de la enfermedad. El principal interés de las cámaras fue controlar la temperatura del sustrato en el que crecían las plantas ya que temperaturas superiores a 28°C en el sustrato podrían haber implicado un salto de resistencia por parte de los nematodos y las diferencias entre plantas resistentes y sensibles podrían haber sido más difíciles de identificar.

Las plantas se mantuvieron en cámaras durante 60 días tras la inoculación.



Figura 26.- Plántulas de pimiento en cámara de cultivo.

3.3.1.5. Toma de datos

Trascurridos 60 días después de la inoculación de nematodos se procedió a la medida de aquellos parámetros que podrían indicar incidencia de los nematodos sobre las plantas de pimiento.

Los parámetros evaluados fueron considerados en los cuatro tratamientos distintos (Capitán inoculado, Capitán testigo, Acorde inoculado y Acorde testigo) para poder así realizar una comparación entre las plantas de una misma variedad inoculadas y sin inocular y además hacer la comparación de comportamiento frente a nematodos entre variedades que poseen resistencia genética y variedades que no disponen de ella, lo cual implicaba el mayor interés de este proyecto. Dichos parámetros fueron índice de nodulación, altura de la planta, cantidad de hojas, peso seco de raíz, peso seco del tallo y peso seco total de la planta.

3.3.1.5.1. Índice de nodulación

El índice de nodulación determina la cantidad de nódulos formados en la raíz debido a la infección por nematodos. Posiblemente este sea uno de los parámetros más importantes a la hora de valorarla infección producida en la raíz.

Para evaluar este parámetro primero se realizó la separación de las raíces del sustrato seguido del lavado de estas para poder cuantificar y anotar correctamente la cantidad de nodulación de la raíz. Una vez cuantificada la nodulación se procedió a la valoración de esta en una escala puntada con valore del 1 al 10 (índice visual de nodulación de Bridge y Page (1980) modificado) el cual se puede observar en la figura siguiente.

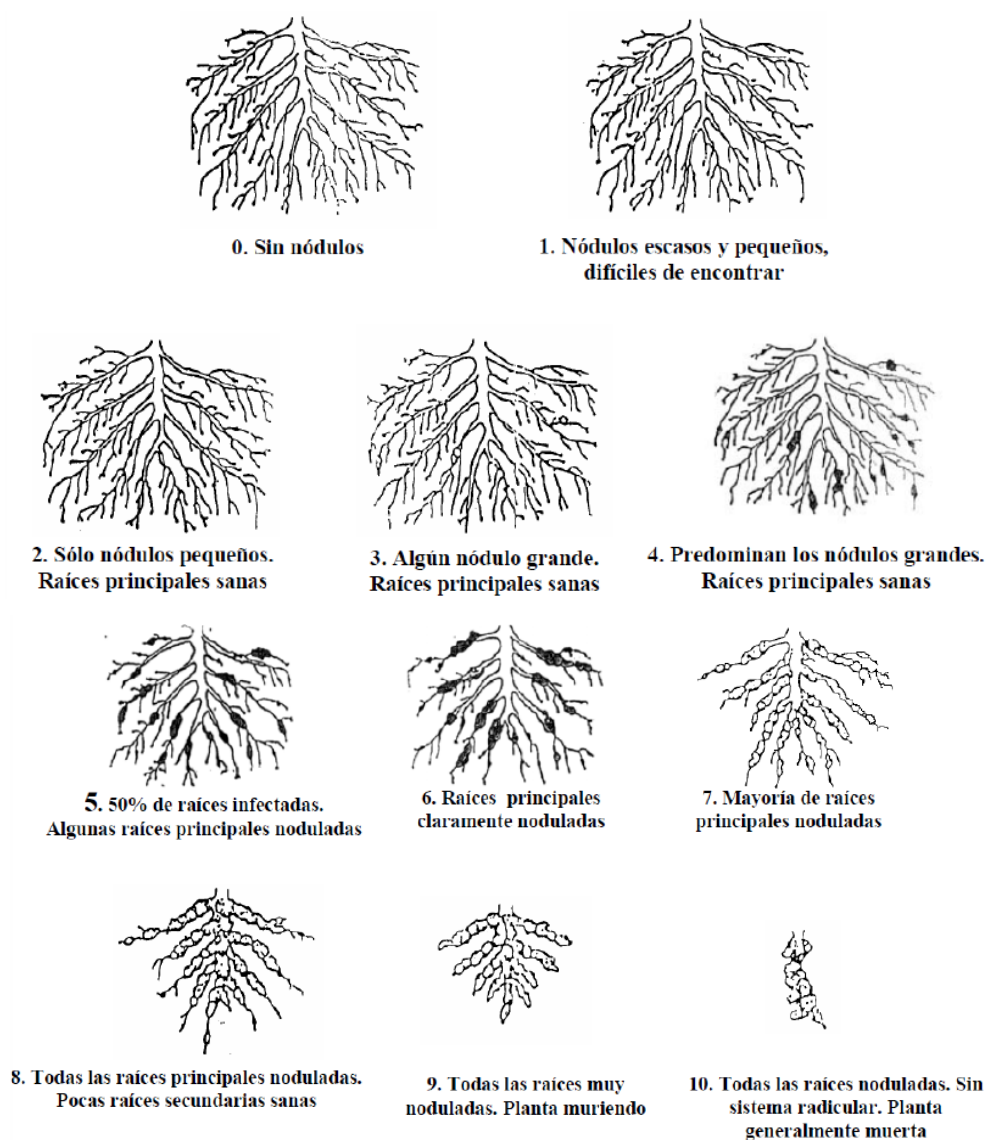


Figura 27.- Índice visual de nodulación de Bridge y Page (1980) modificado.

3.3.1.5.2. Altura de la planta

La altura determina la incidencia de nematodos en la raíz, ya que el crecimiento es menor en aquellas plantas en las que la incidencia del patógeno es mayor.

La altura de la planta se midió con cinta métrica obteniendo el valor de la distancia entre la base del tallo (donde acaba el sistema radicular) y el brote apical de la planta.



Figura 28.- Medida de la altura de la planta.

3.3.1.5.3. Cantidad de hojas

La cantidad de hojas fue medida mediante conteo.

3.3.1.5.4. Peso seco

Después de haber medido los distintos parámetros se introducen las raíces, previamente lavadas y escurridas, y partes aéreas en la estufa a 70 °C durante 48 horas para posteriormente proceder al pesado de las raíces y partes aéreas secas en la balanza de precisión, para calcular la materia seca total por plántula y por sus distintas partes.



Figura 29.- sobres con raíz y parte aérea de la planta preparados para el secado.



Figura 30.- Estufa de secado donde las plantas se mantuvieron durante 48 horas a 70°C.



Figura 31.- Separación de sistema radical y parte aérea seca para proceder a su pesado.

El peso seco de la raíz determina el grado de incidencia del patógeno y a su vez también determina el peso seco del tallo y por tanto el peso seco total de la planta.

3.3.1.5.5. Análisis estadístico del ensayo de nematodos.

Todos los parámetros obtenidos en el ensayo (índice de nodulación, longitud de planta, número de hojas, peso seco de la parte aérea, peso seco de la raíz y peso seco total) fueron sometidos a análisis multifactorial con interacción considerando los factores Variedad e inoculación. Cuando se encontró interacción estadísticamente significativa se realizó análisis de la varianza simple.

3.3.2. Diseño experimental con *Leveillula taurica*

Para este ensayo se utilizaron plantas portadoras tolerancia genética a *Leveillula taurica* (variedad *Capitán*) y plántulas que carecían de dicha tolerancia (variedad *Azahar*) de manera que se utilizaron 48 plántulas de cada variedad, de las cuales 24 fueron inoculadas y las otras 24 fueron utilizadas como testigo, usándose un número total de 98 plantas entre ambas variedades. Una vez preparadas las plantas, estas fueron introducidas en cámaras fitotrones para permitir un desarrollo adecuado tanto de las plantas como del patógeno para por último proceder a la toma de datos de aquellos parámetros interesantes desde el punto de vista de este ensayo (cantidad de plantas enfermas por variedad, comienzo de la infección, cantidad de hojas enfermas, cantidad de hojas amarillas y cantidad de hojas caídas).

El objetivo al igual que en el diseño experimental con nematodos, es evaluar la tolerancia frente al patógeno *Leveillula taurica* para poder identificar las diferencias fenotípicas entre variedades que portan dicha tolerancia genética y variedades que no lo poseen y así poder crear un protocolo que permita introducir e identificar dicho gen en programas de mejora genética de pimiento dulce.

3.3.2.1. Obtención del inóculo

Para la obtención del inóculo se procedió a la visita de plantaciones con problemas de *Leveillula taurica* situadas en el campo de Dalias (El Ejido) buscando plantas que solo presentaran síntomas de dicho patógeno.

Se procedió a la recogida de hojas infectadas para posteriormente ser utilizadas como inóculo.



Figura 32.- Plantación de pimiento de la cual se obtuvo el patógeno *Leveillula taurica* utilizado para su posterior inoculación.



Figura 33.- Hojas con presencia de *Leveillula taurica* utilizadas en la inoculación.

3.3.2.2. Preparación del material vegetal e inoculación

Las 24 plántulas de cada tratamiento (*Capitán* inoculado, *Azahar* testigo, *Acorde* inoculado y *Acorde* testigo) fueron plantadas con 45 días de edad en maceteros de 0,5l de volumen usando turba como sustrato.

Una vez plantadas las plántulas se procedió a la inoculación con el patógeno *Leveillula taurica* mediante la sacudida de hojas sobre las plantas a inocular de manera que las esporas caigan sobre la planta. Tras la inoculación, las plantas se introdujeron en una cámara de cultivo.



Figura 34.- Inoculación de *Leveillula taurica* mediante sacudida de hojas sobre la planta.

3.3.2.3. Desarrollo en cámaras de cultivo

El desarrollo de plantas se realizó en cámara de cultivo perteneciente a los servicios técnicos de la Universidad de Almería. En esta cámara se mantuvieron condiciones de humedad relativa del 85% y temperatura de 20°C ya que estas son las condiciones óptimas de desarrollo de *Leveillula taurica*.

3.3.2.4. Toma de datos

Se realizaron 3 tomas de datos, la primera trascurridos 20 días después de la inoculación, la segunda trascurridos 30 días y la tercera a los 40 días.

Los parámetros evaluados fueron considerados en los cuatro tratamientos distintos (*Capitán* inoculado, *Capitán* testigo, *Azahar* inoculado y *Azahar* testigo) para poder así realizar una comparación entre las plantas de una misma variedad inoculadas y sin inocular y además hacer la comparación de comportamiento frente a *Leveillula taurica* entre variedades portadoras de resistencia genética y variedades que no la poseen.

Los parámetros a medir fueron el número de hojas por planta, nº de hojas amarillas por planta, nº de hojas caídas por planta y nº de hojas infectadas por plantas.

3.3.2.5. Análisis estadístico del ensayo de oidio.

Todos los parámetros obtenidos en el ensayo (número de hojas por planta, nº de hojas amarillas por planta, nº de hojas caídas por planta y nº de hojas infectadas por plantas) fueron sometidos a análisis multifactorial con interacción considerando los factores Variedad e inoculación. Cuando se encontró interacción estadísticamente significativa se realizó análisis de la varianza simple.

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A NEMATODOS

4.1.1. Índice de nodulación

El índice de nodulación es posiblemente el parámetro más importante a la hora de evaluar el comportamiento de variedades de pimiento con tolerancia a nematodos del género *Meloidogyne* y variedades de pimiento que no poseen dicha tolerancia ya que este parámetro nos proporciona información directa sobre la incidencia de estos patógenos los cuales son formadores de agallas o nódulos en la raíz.

Al evaluar el índice de nodulación en una escala con valores comprendidos entre 1 y 10 en función del número de nódulos y de la superficie que estos ocupan, se encontraron diferencias significativas entre la variedad *Capitán* inoculada, la variedad *Acorde* inoculada y los dos testigos de ambos (estos últimos sin diferencias significativas entre ellos) (gráfico 7).

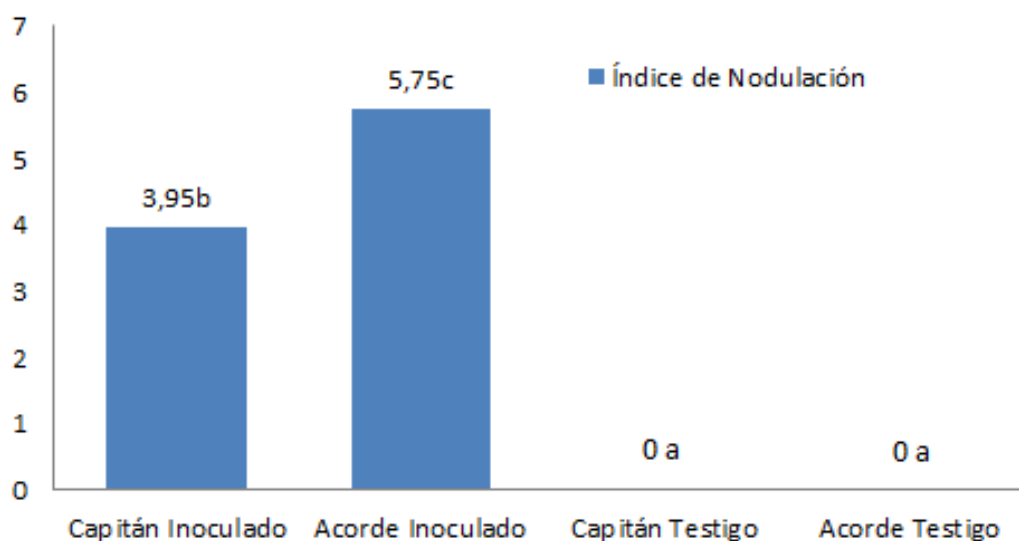


Gráfico 7.- Índice de nodulación medio en las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

Las plantas testigo de *Acorde* y *Capitán* no presentaron nodulación alguna como era de esperar ya que en estas plantas no se inocularon nematodos. Dichos testigos presentaron diferencias significativas con respecto a las plantas de *Acorde* y *Capitán* inoculadas las cuales si presentaban nodulación.

También se encontraron diferencias significativas entre las plantas de *Acorde* inoculadas y las plantas de *Capitán* inoculadas (1,80 puntos de diferencia en la escala de nodulación) siendo el índice de nodulación mayor en un 45% en las plantas de

Acorde (donde se obtuvo un valor de 5,75) que en las plantas de *Capitán* (donde se obtuvo un valor de nodulación de 3,95).

El menor índice de nodulación en la plantas de la variedad *Capitán* fue debido a la acción del gen N el cual confiere tolerancia contra nematodos del género *Meloidogyne* dificultando la formación del sitio de alimentación creado por los nematodos al infectar la planta de manera que se producen una menor cantidad de nódulos en las plantas que portan dicho gen que en aquellas que no lo portan.

Thies (1998) obtuvo unos resultados parecidos al evaluar el índice de nodulación en una escala del 1 al 10 evaluando plantas de la variedad *Carolina Wonder*, portadora del gen N, y plantas de variedades que no portaban el gen. El resultado fue un menor índice de nodulación en las plantas de *Carolina Wonder* donde se obtuvo un índice de nodulación de 2,4 en comparación con el resto de variedades en las que se obtuvo un valor comprendido entre 7 y 8.

Es probable que si las condiciones de iluminación de la cámara hubiesen sido más idóneas, y las plantas no hubiesen sufrido déficit de iluminación, el gen N podría haber actuado con más intensidad y haber reducido la nodulación de las raíces de las plantas de *Capitán*.

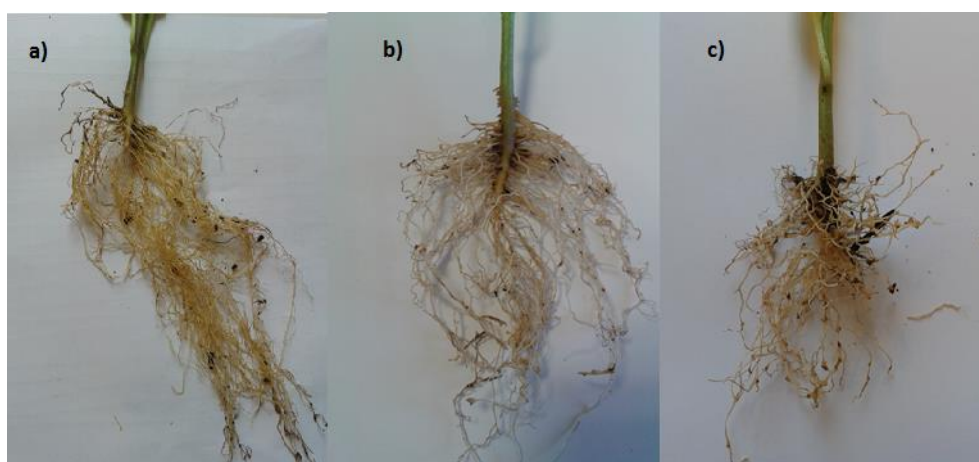


Figura 35.- Diferencias de nodulación entre la raíz de una planta sin inocular (a), una planta de la variedad *Capitán* inoculada(b) y una planta de la variedad *Acorde* Inoculada (c).

4.1.2. Altura de planta

La altura de la planta es un parámetro influenciado por varios factores como la temperatura, la intensidad lumínica que determina la actividad fotosintética, la nutrición de la planta etc. En este ensayo el factor que más pudo influir a la altura de la parte aérea de la planta fue el desarrollo radicular de la planta, el cual está

directamente relacionado con la incidencia producida por los nematodos en la raíz de la planta.

Al evaluar la altura de las plantas de los diferentes tratamientos se observaron diferencias significativas entre la altura de las plantas (gráfico 8). Las plantas de Acorde inoculadas presentaron una menor altura que las plantas de *Capitán* inoculado y *Capitán* testigo. Sin embargo no se observaron diferencias significativas entre las plantas de *Acorde* testigo y *Acorde* inoculado aunque las plantas testigo presentaban una altura media mayor de 0,13 cm.

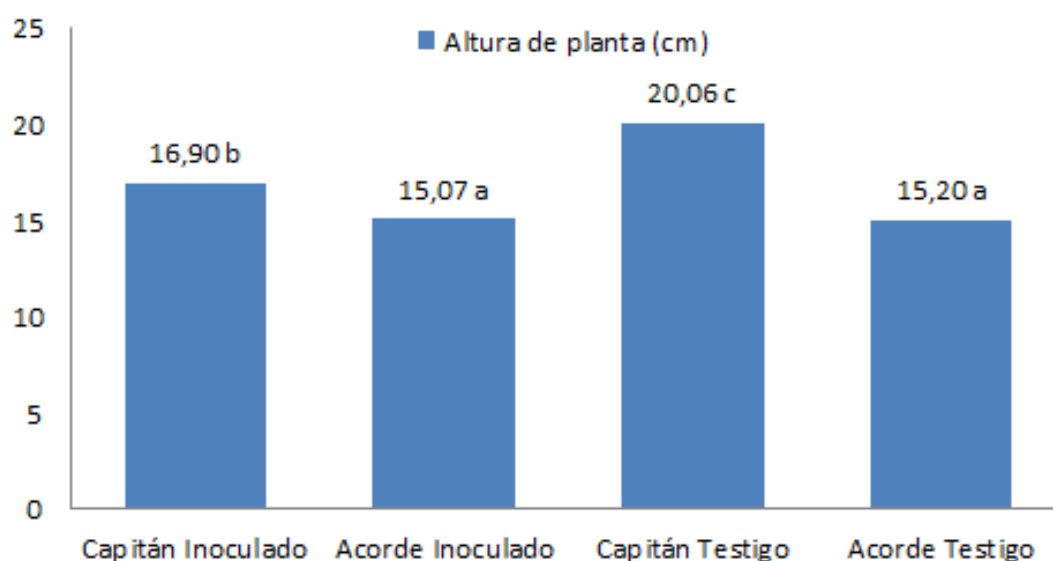


Gráfico 8.- Altura media de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

Al observar las plantas de *Acorde* y *Capitán* inoculadas se observó una clara diferencia de tamaño, siendo mayor la altura media de las plantas de *Capitán* inoculadas en 1,83 cm con respecto a la altura media de las plantas de *Acorde* inoculadas. Esta diferencia significativa probablemente fue debida a la expresión del gen N el cual dificultó la reproducción de los nematodos al reducir el nivel de nodulación en la raíz y de forma indirecta contribuyó a formar un sistema aéreo de la planta mejor desarrollado que en las plantas cuyo índice de nodulación era superior.

La altura media de las plantas de *Capitán* testigo fueron significativamente superiores al resto de tratamientos, existiendo una diferencia de 3,16 cm con respecto a las plantas de *Capitán* inoculadas; 4,99 cm con respecto a las plantas de acorde inoculado y 4,86 cm con respecto a las plantas de *Acorde* testigo. La diferencias significativas de altura entre las plantas de *Capitán* testigo y las plantas inoculadas tanto de *Acorde* como de *Capitán* eran de esperar debido a que las plantas de *Capitán*

testigo no fueron inoculadas y por tanto no hubo presencia de nematodos que perjudicaran al crecimiento de estas plantas.

Más difícil de explicar fue la diferencia de tamaño entre las plantas testigo de *Capitán* y las Testigo de *Acorde* (figura 36) ya que estas plantas no fueron inoculadas con nematodos y el resultado a esperar es que tanto las plantas de *Acorde* como las de *Capitán* hubiesen obtenido un tamaño similar. La diferencia de tamaño probablemente fue debida a la heterogeneidad lumínica recibida por las plantas testigo dentro de la cámara, recibiendo más luz las plantas de *Capitán* testigo que las plantas de *Acorde* testigo. La mayor iluminación implicó una mayor actividad fotosintética y por tanto un mayor crecimiento de las plantas.



Figura 36.- Diferencia de tamaño entre las plantas testigo de Capitán (a) y plantas testigo de Acorde (b).

4.1.3. Peso seco total

Al examinar el peso seco total medio en los diferentes tratamientos, se observaron diferencias significativas entre los dos tratamientos inoculados y entre los dos testigos sin inocular. Entre las plantas inoculadas de *Capitán* y las plantas testigo de *Acorde* no se observaron diferencias significativas (gráfico 9).

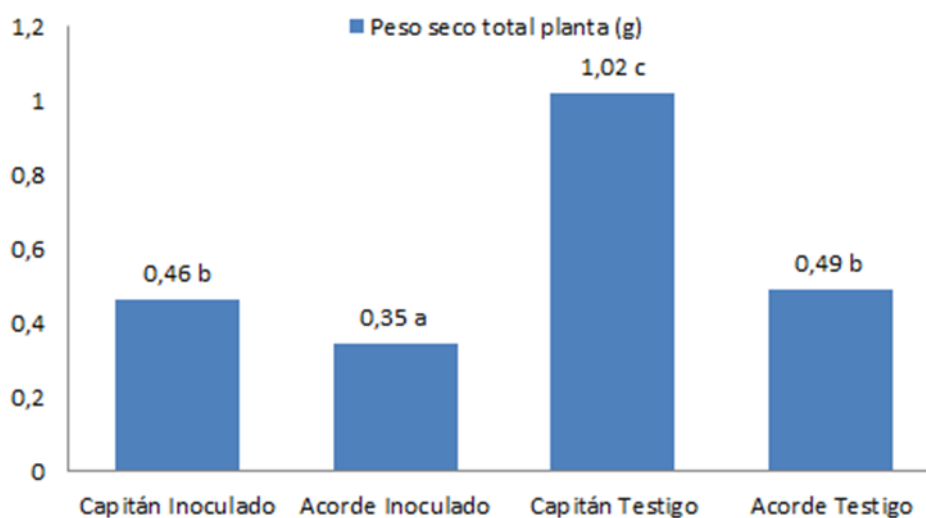


Gráfico 9.- peso seco medio total de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

Al comparar los resultados obtenidos en las plantas de *Capitán* inoculado y las plantas de *Acorde* inoculado, se observó que el peso seco total de las plantas de *Capitán* (0,46 g) era significativamente mayor que el de las plantas de *Acorde* (0,35g), existiendo una diferencia media de peso de 0,11g. Esta diferencia de peso probablemente, al igual que en los parámetros anteriores, fue producida por la acción del gen N que al reducir la incidencia de los nematodos, permitió que las plantas de la variedad *Capitán* acumularan una mayor cantidad de materia seca.

En el comportamiento de las plantas de *Capitán* inoculado y las plantas de *Acorde* testigo no se observaron diferencias significativas aunque el peso fue ligeramente mayor en las plantas de *Acorde* testigo (alcanzando un valor medio de 0,49 g por planta) que en las plantas de *Capitán* inoculado (con un valor medio de 0,46 g) existiendo una diferencia de 0,03 g. Lo normal hubiese sido que las plantas de *Acorde* testigo hubiesen alcanzado un mayor peso seco pero esto no fue posible seguramente debido a la falta de iluminación que tuvieron estas plantas con respecto al resto de tratamientos.

Las plantas de *Capitán* testigo tuvieron un peso seco medio significativamente mayor que el resto de tratamientos, mayor también que las plantas testigo de *Acorde* cuando lo lógico y esperado hubiese sido no obtener diferencias significativas entre ellos ya que ninguno de los testigos fue inoculado. Ocurrió lo mismo que en el caso del tamaño de la planta, es decir, la diferencia de iluminación recibida por los dos testigos implicó un mayor desarrollo de las plantas de *Capitán* testigo que el de las plantas de *Acorde* testigo y por tanto un mayor peso seco de la planta.

4.1.4. Peso seco de raíz

De entre todas las medidas de peso seco, quizás el peso seco de raíz sea el más importante ya que nos da información acerca del desarrollo radicular de la planta.

Al evaluar el peso seco medio de raíz, se obtienen resultados parecidos al resto de parámetros estudiados, obteniendo diferencias significativas de peso entre las plantas inoculadas de Acorde y Capitán, entre los testigos sin inocular de Acorde y Capitán y entre el testigo de Capitán sin inocular y las plantas inoculadas de Capitán y Acorde tal y como se puede observar en la gráfica 10.

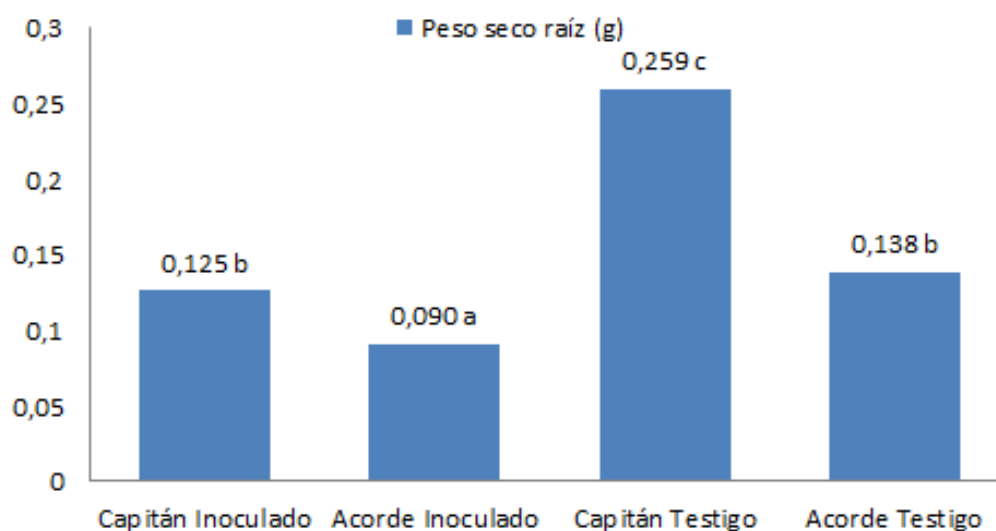


Gráfico 10.- Peso seco medio de raíz de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

De los tratamientos inoculados, las plantas de *Capitán* inoculadas obtuvieron un peso medio de 0,125 g, siendo significativamente mayor que el peso de raíz medio de las plantas de *Acorde* inoculadas las cuales obtuvieron un valor de 0,09 g, existiendo una diferencia de 0,035g entre *Capitán* y *Acorde*.

Comparando los tratamientos testigos con los tratamientos inoculados, se observaron diferencias significativas de peso seco de raíz entre las plantas testigo de *Capitán* y las plantas inoculadas de *Capitán* obteniendo valores de 0,259 g y 0,125g respectivamente existiendo una diferencia de 0,134 g entre ambos. Al comparar el testigo de *Acorde* con el tratamiento inoculado de *Acorde* ocurrió lo mismo, siendo el peso seco de raíz significativamente superior en el tratamiento testigo (donde alcanzo el valor de 0,138 g) que en el tratamiento inoculado (donde se alcanzó el valor de 0,09 g) existiendo una diferencia entre ellos de 0,048 g.

Entre las plantas de *Capitán* inoculado y las de *Acorde* testigo no se obtuvieron diferencias significativas de peso seco de raíz aunque este fue ligeramente mayor en un valor medio de 0,013 g que el obtenido en las plantas de *Capitán* inoculado. Cabría haber esperado un peso seco de raíz significativamente mayor en las plantas de *Acorde* pero al igual que en los casos anteriores la falta de luz con respecto al resto de plantas seguramente influyó en el desarrollo de estas.

Comparando los testigos de ambas variedades, el peso seco de raíz en las plantas de *Capitán* fue significativamente mayor (0,259 g de media) que el obtenido en el testigo de *Acorde* (0,138 g) debido a las circunstancias comentadas anteriormente.

En cuanto a la evaluación de la influencia de la resistencia genética sobre el peso seco de la raíz, Thies (1998) obtuvo resultados similares, obteniendo mayor peso seco de raíz en variedades resistentes (*Charleston Belle* y *Carolina Wonder*) que en aquellas variedades que carecían de resistencia (*Keystone Resistan Giant* y *Yolo Wonder B*).

Thies (1998) evaluó plantas de mayor edad y por lo tanto mayor desarrollo obteniendo pesos de 2,1 g y 2,3 g en las plantas de las variedades resistentes *Charleston Belle* y *Carolina Wonder* y de 1,6 g en las plantas de las variedades *Keystone Resistan Giant* y *Yolo Wonder B*.

4.1.5. Peso seco del tallo

El peso seco del tallo era el último parámetro a evaluar para ver el comportamiento de la resistencia a nematodos del género *Meloidogyne*. Dicho parámetro estaba íntimamente ligado al peso seco del sistema radicular el cual implicaba un mayor desarrollo de la parte aérea.

Al evaluar este parámetro siguió en todos los tratamientos el mismo patrón que en el caso del peso seco total y el peso seco de la raíz existiendo diferencias significativas de peso entre las plantas inoculadas de *Acorde* y *Capitán*, entre los testigos sin inocular de *Acorde* y *Capitán* y entre el testigo de *Capitán* sin inocular y las plantas inoculadas de *Capitán* y *Acorde* tal y como se puede observar en la gráfica 11.

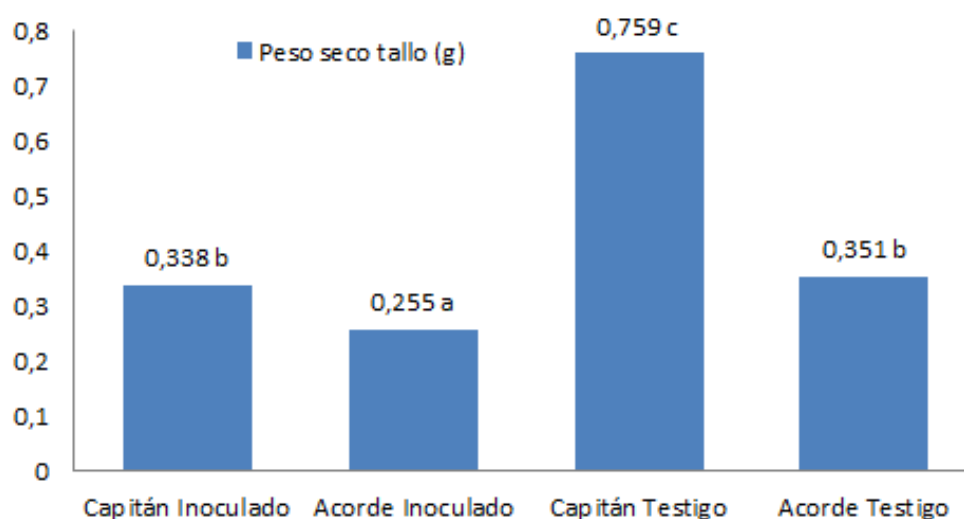


Gráfico 11.- Peso seco del tallo de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Acorde testigo, Capitán testigo, Acorde inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

Evaluando los tratamientos testigos con los tratamientos inoculados, se observaron diferencias significativas de peso seco de tallo entre las plantas testigo de Capitán y las plantas inoculadas de Capitán obteniendo valores de 0,759 g y 0,338 g respectivamente existiendo una diferencia de 0,421 g entre ambos. Al comparar el testigo de Acorde con el tratamiento inoculado de Acorde ocurrió lo mismo, siendo el peso seco de raíz significativamente superior en el tratamiento testigo en un 27,35% (donde alcanzo el valor de 0,351 g) que en el tratamiento inoculado (donde se alcanzó el valor de 0,255 g).

De los tratamientos inoculados, las plantas de *Capitán* inoculadas obtuvieron un peso medio de 0,338 g, siendo significativamente mayor que el peso de raíz medio de las plantas de *Acorde* inoculadas las cuales obtuvieron un valor de 0,255 g, existiendo una diferencia de 0,083 g entre *Capitán* y *Acorde*.

Entre las plantas de *Capitán* inoculado y las de *Acorde* testigo no se obtuvieron diferencias significativas de peso seco de raíz aunque este fue ligeramente mayor en un valor medio de 0,013 g que el obtenido en las plantas de *Capitán* inoculado.

Por último comparando los testigos de ambas variedades, el peso seco de raíz en las plantas de Capitán fue significativamente mayor (0,759 g de media) que el obtenido en el testigo de Acorde (0,351 g).

4.2. EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A LEVEILLULA TAURICA

4.2.1. Número de hojas por planta

Al evaluar el número de hojas por planta, se observaron diferencias significativas entre las plantas de la variedad *Azahar* y las de *Capitán*, siendo mayor el número de hojas medio en las plantas de *Azahar* en 1,315 hojas sin diferenciar entre plantas testigo y plantas inoculadas con *Leveillula taurica* (gráfico 12).

Entre las plantas inoculadas de *Capitán* y *Azahar* y sus respectivos testigos, no se produjeron diferencias significativas. Entre las plantas de testigo e inoculadas de la variedad inoculada, no se observó ninguna diferencia obteniendo ambos tratamientos el valor medio de 15,33 hojas por planta.

Las plantas de *Azahar* testigo tuvieron un número medio de hojas ligeramente superior al de las plantas inoculadas (0,37 hojas más por planta) aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

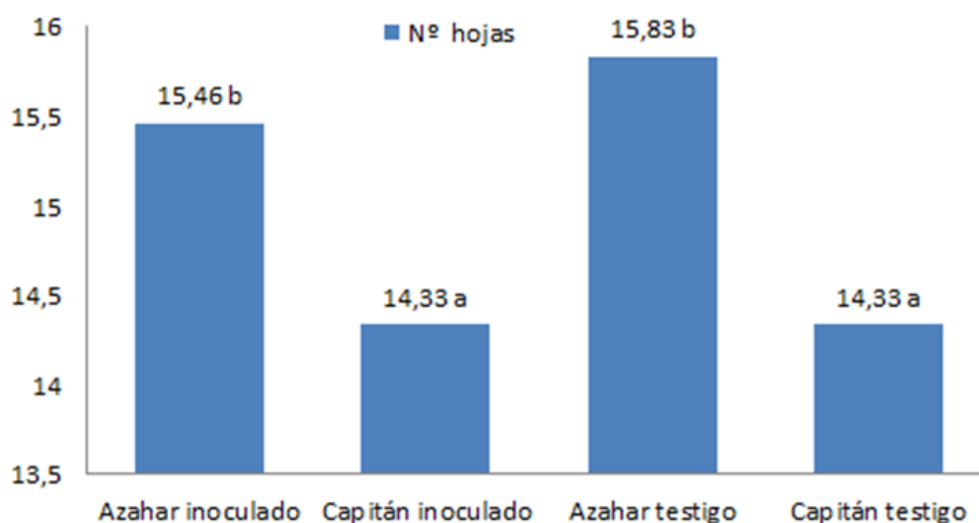


Gráfico 12.- Número de hojas medio de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

Las diferencias encontradas entre las plantas de *Azahar* y *Capitán* probablemente fueron debidas a características genotípicas propias de cada variedad, ya que *Azahar* es una variedad para ciclo de plantación medio a diferencia de *Capitán* el cual es para ciclo de plantación más temprano. Se puede llegar a esta conclusión debido a que las plantas inoculadas con el patógeno *Leveillula taurica* tienen el mismo

número de hojas que las plantas de sus respectivos testigos, por lo cual este probablemente no tuvo influencia en el número medio de hojas por planta.

4.2.2. Número de hojas amarillas

Al evaluar la cantidad media de hojas amarillas por planta en los diferentes tratamientos, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de ellos (Gráfico 13).

A pesar de no observarse diferencias estadísticamente significativas, las plantas inoculadas de *Azahar* fueron las que obtuvieron el mayor número de hojas amarillas de todos los tratamientos con un valor de 2,21 hojas amarillas por planta, seguido de las plantas de *Capitán* testigo con 2 hojas amarillas por planta, de *Azahar* testigo con 1,92 hojas amarillas por planta y por último de *Capitán* inoculado con 1,13 hojas amarillas por planta.

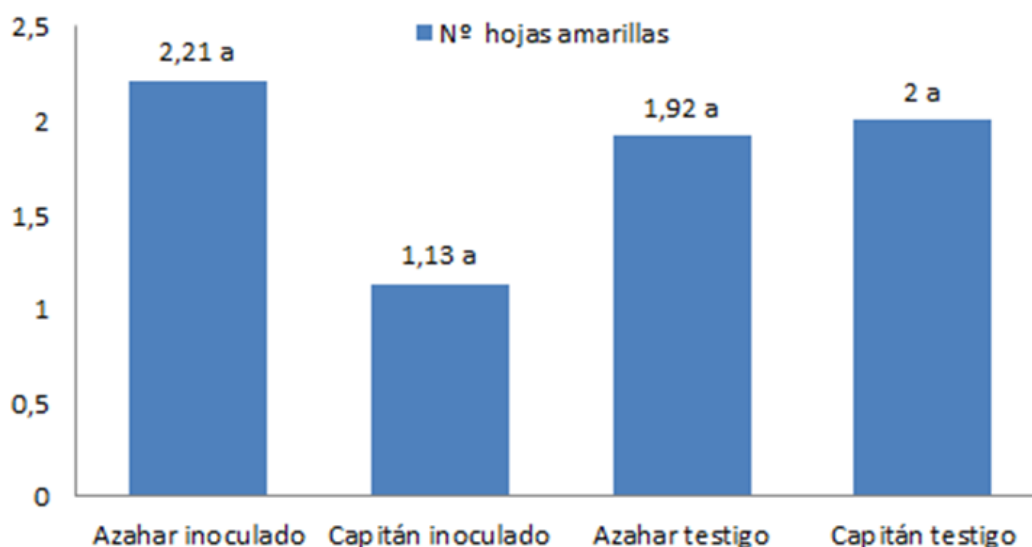


Gráfico 13.- Número medio de hojas amarillas de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

La cantidad de hojas amarillas observadas, probablemente fueron debidas a la falta de luz en la cámara y no a la inoculación del patógeno *Leveillula taurica*, ya que los diferentes tratamientos tienen un comportamiento similar, e incluso en las plantas de capitán inoculado, la cantidad de hojas amarillas fue inferior.

4.2.3. Número de hojas caídas

Al evaluar la cantidad media de hojas amarillas por planta en los diferentes tratamientos, al igual que ocurría con la cantidad de hojas amarilla, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de ellos (Gráfico 14).

A pesar de que no se observaron diferencias estadísticamente significativas, las plantas testigo de *Capitán* fueron las que obtuvieron el mayor número de hojas caídas de todos los tratamientos con un valor de 0,5 hojas caídas por planta, seguido de las plantas de *Azahar* testigo con 0,33 hojas amarillas por planta, de *Azahar* testigo con 0,25 hojas amarillas por planta y por último de *Capitán* inoculado con 0,17 hojas amarillas por planta.

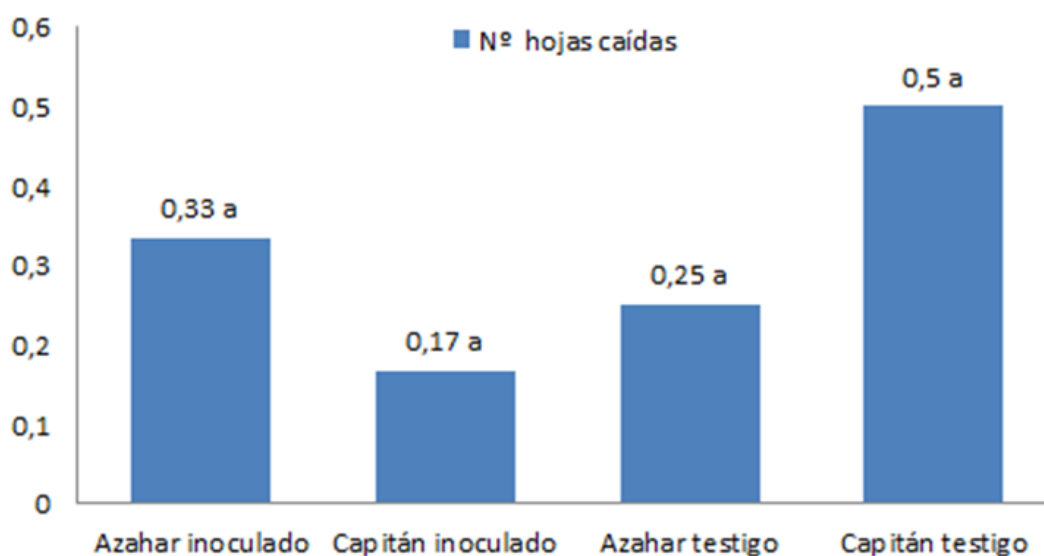


Gráfico 14.- Número medio de hojas caídas de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

La cantidad de hojas caídas observadas, probablemente fueron debidas a la falta de luz en la cámara y no a la inoculación del patógeno *Leveillula taurica*, ya que los diferentes tratamientos tienen un comportamiento similar, e incluso en las plantas de capitán testigo, fue donde se produjo mayor caída de hojas a pesar de que estas plantas no mostraron incidencia de la enfermedad.

4.2.4. Número de hojas infectadas

El número de hojas infectadas es uno de los parámetros más importantes a la hora de evaluar el nivel de resistencia de *Capsicum annuum* frente al patógeno *Leveillula taurica* ya que este incide sobre la hoja produciendo manchas amarillentas difusas en el haz de la hoja, con proliferación de micelio en el envés.

Al observar la cantidad de hojas afectadas, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos tal y como se observa en el gráfico 15. Las plantas testigo de la variedad *Capitán* no presentaron incidencia alguna de *Leveillula taurica* a diferencia del resto de tratamientos.

Entre las plantas inoculadas y sus respectivos testigos existieron diferencias significativas, las plantas de *Azahar* inoculado presentaron de media 2,12 hojas infectadas por planta a diferencia de las plantas de *Azahar* testigo las cuales presentaron 0,25 hojas infectadas por planta. Las plantas de *Capitán* inoculado apenas presentaron incidencia de enfermedad (0,17 hojas enfermas por planta) aunque fue mayor que en las plantas de *Capitán* testigo las cuales presentaron ausencia de enfermedad.

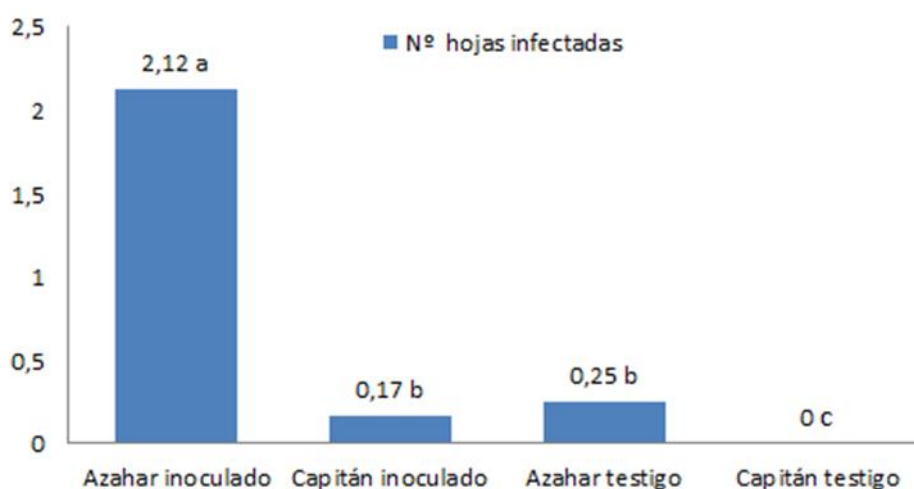


Gráfico 15.- Número medio de hojas infectadas por *Leveillula taurica* de las plantas de los diferentes tratamientos evaluados (Azahar testigo, Capitán testigo, Azahar inoculado y Capitán inoculado). Valores numéricos seguidos de distinta letra denotan significación estadística para $P < 0,05$ según el test LSD.

Las diferencias entre las plantas de *Azahar* inoculadas y *Capitán* inoculadas fueron aún más llamativas, enfermando 2,12 hojas por planta de *Azahar* inoculado y 0,17 hojas por planta de *Capitán* inoculado.

Comparando el testigo de la variedad *Azahar* con las plantas de *Capitán* inoculadas no se observaron diferencias significativas aunque las plantas de *Capitán*

inoculadas presentaron menor incidencia (0,17 hojas enfermas por planta) que las plantas testigo de *Azahar* (0,25 hojas enfermas por planta), las cuales no fueron inoculadas en ningún momento del ensayo y a pesar de ello presentaron infección natural.

Las diferencias obtenidas eran de esperar ya que las plantas de menor incidencia de enfermedad son las de la variedad *Capitán* las cuales poseen resistencia genética a *Leveillula taurica* la cual retrasa la penetración del patógeno en la planta.

4.2.5. Evolución de la enfermedad

La enfermedad comenzó a manifestarse a los 20 días de inoculación de las plantas y mantenimiento de estas en cámaras en condiciones de temperatura de 20°C y humedad relativa en torno al 85%. Las primeras plantas que presentaron síntomas correspondían a las plantas de *Azahar* inoculado de las cuales 6 plantas de 24 tenían presencia del micelio propio de *Leveillula taurica* tal y como se puede observar en la gráfica 16.

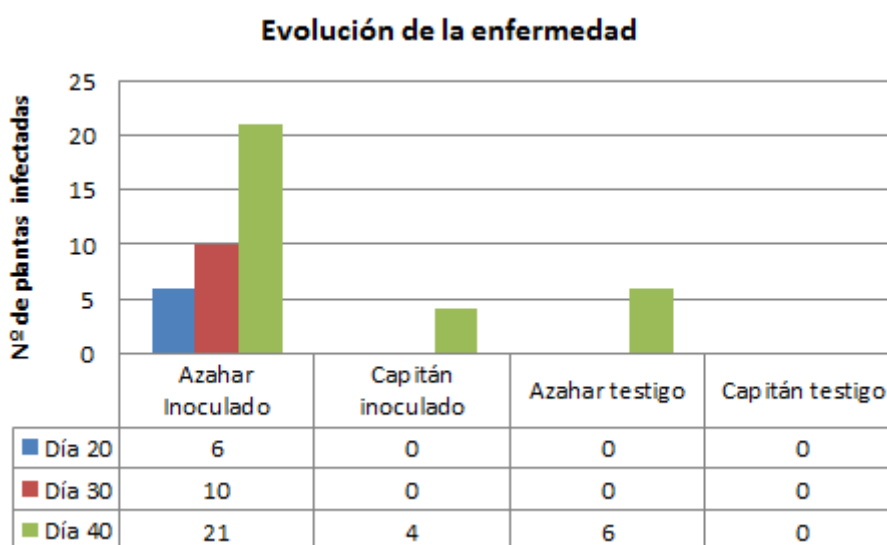


Gráfico 16.- Evolución del número de plantas de los diferentes tratamientos (*Azahar* testigo, *Capitán* testigo, *Azahar* inoculado y *Capitán* inoculado) a lo largo del tiempo.

A los 30 días de la inoculación, la incidencia de la infección fue aumentando en las plantas de *Azahar* inoculado incrementándose el número de plantas infectadas hasta el 42% (10 plantas de 24). El resto de tratamientos (*Azahar* testigo, *Capitán* testigo y *Capitán* inoculado) no presentaron ninguna planta con síntoma.

Trascurridos 40 días tras la inoculación con el patógeno *Leveillula taurica*, se produjo la mayor incidencia de la enfermedad. En este momento todos los

tratamientos presentaron incidencia de *Leveillula taurica* exceptuando el tratamiento *Capitán* testigo.

Al final del ensayo (40 días tras la inoculación del patógeno), el tratamiento de *Azahar* inoculado presentaba el 87,5% de plantas infectadas, el tratamiento de *Capitán* inoculado el 16,66 plantas infectadas, el tratamiento de *Azahar* testigo el 25% de plantas infectadas y el tratamiento de *Capitán* testigo no presentaba ninguna planta infectada.

El retraso de la enfermedad observado posiblemente se debió a la acción de la resistencia genética ya que las plantas de la variedad *Capitán* fueron las que menor incidencia de enfermedad tuvieron, incluso menor que las plantas de *Azahar* testigo las cuales se infectaron de forma natural.

5.- CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

1.- En la evaluación del comportamiento frente a nematodos del género *Meloidogyne* de la variedad Capitán y la variedad Acorde se ha obtenido:

a) Una reducción estadísticamente significativa en el índice de nodulación en la variedad *Capitán* frente a la variedad *Acorde*.

b) Además el peso seco total de la planta, el peso seco de raíz y el peso seco del tallo ha sido significativamente superior en la variedad *Capitán*.

2.- En cuanto a la valoración de la incidencia de *Leveillula taurica* en las variedades Capitán y Azahar se ha obtenido:

a) Una reducción estadísticamente significativa de la cantidad de plantas afectadas por *Leveillula taurica* en la variedad Capitán frente a la variedad Azahar.

b) Así mismo el tiempo de comienzo de infección fue superior en la variedad Capitán (40 días tras inoculación) que en la variedad Azahar (20 días después de la inoculación).

3.- A la luz de los resultados obtenidos y siguiendo las metodologías de inoculación empleada para posteriores evaluaciones, la variedad Capitán puede ser utilizado como control tolerante frente a ambas enfermedades, y las variedades Acorde y Azahar como variedades sensibles a *Meloidogyne* y *Leveillula taurica* respectivamente.

6.- BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

- Amorin L. 1995. Colonização e reprodução. En. Manual de Fitopatologia, princípios e conceitos.
- Abad P., Favery B., Rosso M. N. y Castagnone-Sereno P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology* 4, 217-224.
- Bello A., 1983. Nematodos patógenos de los árboles frutales. Boletín del servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica 9, 133-165.
- Bello A., Navas A., Belart C. y Alvira M. P., 1985. Nematodos de los cítricos. Excmo. Ayto. de Castellón de la Plana, 222 pp.
- Bello A., Escuer M. y Arias M., 1994 a. Nematological problems, production systems and mediterranean environments. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 24, 383-391
- Bello A., Escuer M. y Pastrana M. A., 1994 b. Nematodos fitoparásitos y su control en ambientes mediterráneos. In: Llácer G., López M. M., Trapero A. y Bello A. (Eds). *Patología vegetal*. SEF, Valencia, 1039-1069.
- Bello A., Rey J. M., Arias M. y González J. A., 1996. Valores agroambientales de los viñedos de La Mancha y protección de cultivos. *La vid y el vino en Castilla-La Mancha*. JCCM, 155 pp.
- Bello A., López Pérez J. A., Sanz R., Escuer M. y Herrero J., 2000. Biofumigation and organic amendments. Regional Workshop on methyl bromide alternatives for North Africa and Southern European Countries, United Nations Environment Programme (UNEP), Francia, 113.141.
- Bergamin Filho, A., Kimati, H., Amorin L. 1995. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Ceres, v.1,. 919p.
- Bridge J. y Page S. L. J., 1980. Estimation of root-knot nematodes levels using a rating chart. *Tropical pest management* 26, 296-298.
- Cerkauskas, R. 2004. Pepper diseases. Powdery mil-dew. AVRDC. The world vegetable center. Fact sheet. Publication 04-580.
- CHANDER, M.S. 1994. Biochemical properties associated with resistance to powdery mildew in chillies. *Plant Disease Research*, v.9, n.1, p.103-104,.

Ferreira S. 2004. HERANÇA DA REAÇÃO DE *Capsicum* spp. AO OÍDIO (*Leveillula taurica* (LEV.) ARN.)

Fery, R.L., P.D. Dukes, Sr., and J.A. Thies 2000. Characterization of Resistance Conferred by the Ngene to *Meloidogyne arenaria* Races 1 and 2, M. hapla, and M. javanica in Two Sets of Isogenic. J. AMER. SOC. HORT. SCI. 125(1):71–75. 2000.

Frapolli E., 1994. Nematodos. Sanidad vegetal en la horticultura protegida. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca. Sevilla, España.

Genetic Resources of *Capsicum*, International Board for Plant Genetic Resources, 1983 [Crop Genetic Resources Centre, Plant Production and Protection Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations]

Lacasa A., Gerrero M. M., Guirado P. y Ros C., 2002. Alternatives to methyl bromide in sweet pepper crops in Spain. In: Batchelor T. y Bolívar J. M. (Eds). Inter. Conf. alternatives to MB. “The remaining challenges”, UE, 5-8 marzo, Sevilla. Office for official publications of the european communities, Luxembourg, 187-192.

L.M. Mitidieri, M.E. Strassera, P. Amoia y O. Martínez Quintana 2010. Lines of *Capsicum annuum*. Evaluación de fungicidas para el control de oidiopsis (*Leveillula taurica* (Lév.) Arn.) en el cultivo de pimiento bajo cubierta. Horticultura Argentina 29(68).

López-Pérez JA; Robertson L; Bello A; Escuer M; Díez-Rojo MA; Piedra Buena A; Ros C; Martínez C, 2004. Resistencia en pimiento a nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Actas de horticultura Nº 41-II congreso de mejora genética de plantas- León.

Orton Williams K. J., 1972. *Meloidogyne javanica*. CIH. Descrip. plant parasitic nematodes, Set 1, nº 3, 4 pp.

Orton Williams K. J., 1973. *Meloidogyne incognita*. CIH. Descrip. Plant Parasitic Nematodes, Set 2, nº 18, 4 pp.

Orton Williams K. J., 1974. *Meloidogyne hapla*. CIH. Descrip. Plant Parasitic Nematodes, Set 3, nº 31, 4 pp.

Orton Williams K. J., 1975. *Meloidogyne arenaria*. CIH. Descrip. Plant Parasitic Nematodes, Set 5, nº 62, 4 pp.

Piedra Buena A., 2004. Agroecología de *Meloidogyne göldi*, 1982 (Nematoda: Heteroderidae) en cultivos hortícolas protegidos. Tesis doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Univ. Almería, 397 pp.

Ros C., Gerrero M. M., Lacasa A., Guirado P., González A., Bello A., López-Pérez J. A. y Martínez M. A., 2004. El injerto en pimiento. Comportamiento de patrones frente a hongos y nematodos. Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. II J. sobre alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero, Serie: J. y Cong., 16, Región de Murcia, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, 279-311.

Siddiqi M. R., 2000. Tylenchida parasites of plants and insects. CABI, UK, 833 pp.

Thies, J.A. and R.L. Fery. 1998. Modified expression of the N gene for southern root-knot nematode resistance in pepper at high soil temperatures. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 123:1012–1015.

Thies, J. A., Merrill, S. B., and Corley, E. L. 2002. Red foodcoloring stain: New, safer procedures for staining nematodes in roots and egg masses on root surfaces. Journal of Nematology 34:179–181.

Thies, J.A. 2011. Virulence of *Meloidogyne incognita* to expression of N gene in pepper. Journal of Nematology 43(2):90–94.

Yigal Elad, Yoel Messika, Michal Brand, Dalia Rav David, and Abraham Szejnberg 2007. Effect of Microclimate on *Leveillula taurica* Powdery Mildew of Sweet Pepper.