



**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH**

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

**IDENTIFICACION DE RESISTENCIA A *MELOIDOGYNE SPP*
EN GERMOPLASMA DE CUCURBITACEAS PARA SU USO
POTENCIAL COMO PORTAINJERTOS**

Trabajo final de grado
Ingeniería Agrícola

Autor: Maria Munera Gimenez

Tutor: Francesc Xavier Sorribas

17 / junio / 2016

Resumen

Se realizaron diversos ensayos en contenedor para evaluar la resistencia de germoplasma de *Cucumis metuliferus*, *Citrullus lanatus* var. *citroides*, y *C. colocynthis* frente a *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, y *M. javanica* para su potencial uso como portainjertos de pepino, melón o sandía. Los germoplasmas utilizados fueron MEBGV11135 y MEBGV10762 de *Cucumis metuliferus*; CIAN63, CIBGV5167, CIBGV5264 de *C. lanatus* var. *citroides*, y COLPAS18059 de *C. colocynthis*. Todos los ensayos se realizaron en contenedores de 200 cm³ de capacidad que contenían arena esterilizada. Al cabo de una semana del trasplante las plantas fueron inoculadas con 1 J2 cm-3 de substrato y se mantuvieron en cámara climática a 25 ± 2 °C de temperatura y 16:8 h de fotoperiodo (luz:oscuridad) el tiempo suficiente para que el nematodo completase una generación. Se incluyeron pepino cv. Dasher II y sandía cv. Sugar baby como controles susceptibles estándar para comparar. Al finalizar el ensayo, se contabilizaron el número de masas de huevos y de huevos por planta, y se calculó el índice de reproducción (IR) como el porcentaje del número de huevos producido en el germoplasma experimental respecto al control susceptible estándar, pepino para *C. metuliferus*, y sandía para el germoplasma de *Citrullus*. Para identificar germoplasma de *C. metuliferus* resistente a especies y poblaciones de *Meloidogyne* se llevaron a cabo tres ensayos. En el primero de ellos se evaluó la entrada de *C. metuliferus* MEBGV11135 frente a la población Agròpolis de *M. incognita* y MJ05 de *M. javanica*, cada combinación germoplasma-población se repitió 11 veces. En el segundo ensayo se evaluaron las entradas MEBGV11135 y MEBGV10762 frente a las mismas poblaciones utilizadas en el primer ensayo, cada combinación germoplasma-población se repitió 10 veces. En el tercer ensayo, se evaluó la entrada ME BGV11135 frente dos poblaciones de *M. incognita* (Garriga y Agròpolis), tres de *M. javanica* (MJ05, Tugues y Bay), y la población MA 68 de *M. arenaria*, cada combinación germoplasma-población se repitió 15 veces. Para identificar germoplasma de *C. lanatus* var. *citroides* y de *C. colocynthis* resistente a especies y poblaciones de *Meloidogyne* se llevaron a cabo dos ensayos. En el primero de ellos se evaluaron las entradas CIAN 63, CIBGV5167 y CIBGV5264 de *C. lanatus* var. *citroides*, y la entrada COLPAS18059 de *C. colocynthis* frente a la población Agròpolis de *M. incognita* y MJ05 de *M. javanica*, cada combinación germoplasma-población se repitió 10 veces. En el segundo ensayo se evaluaron las entradas CIAN63, CIBGV5167 y CIBGV5264 de *C. lanatus* var. *citroides* frente dos poblaciones de *M. incognita* (Garriga y Agròpolis), tres de *M. javanica* (MJ05, Tugues y Bay), y la población MA 68 de *M. arenaria*, cada combinación germoplasma-población se repitió 15 veces.

Las entradas de *C. metuliferus*, en el conjunto de los ensayos, se mostraron altamente resistentes (IR < 1%) o muy resistentes (IR = 1% - 10%) según la población del nematodo. En relación al germoplasma de *C. lanatus* var. *citroides*, la mayoría de las entradas ensayadas se mostraron muy resistentes (IR = 1% - 10%), excepto la entrada CIAN63, que se mostro resistencia intermedia (IR = 11% - 25%) según la población del nematodo. *C. colocynthis* se comportó como moderadamente resistente (IR = 26% - 50%) a *M. incognita*.

Resum

Es van realitzar diversos assajos en contenidor per avaluar la resistència de germoplasma de *Cucumis metuliferus*, *Citrullus lanatus* var. *citroides*, y *C. colocynthis*, per a *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica* per el seu us potencial com a portaempelts de cogombre, meló o síndria. Els germoplasma utilitzats van ser ME BGV11135 i ME BGV10762 de *Cucumis metuliferus*; CIAN63, CIBGV5167, CIBGV5264 de *C. lanatus* var. *citroides*, i COLPAS18059 de *C. Colocynthis*. Tots els assajos es van realitzar en contenidors de 200 cm³ de capacitat que contenien sorra esterilitzada. Al cap d'una setmana del trasplant les plantes es van inocular amb 1 J2 cm⁻³ de substrat i es van mantenir en cambra climàtica a 25 ± 2 °C de temperatura i 16: 8 h de fotoperíode (llum: fosc) el temps necessari per a que el nematode completes una generació. Es van incloure cogombre cv. Dasher II cv i síndria com a controls estàndards susceptibles per comparar. En finalitzar l'assaig, es van comptabilitzar el nombre de masses d'ous i d'ous per planta, i es va calcular l'índex de reproducció (IR) com el percentatge del nombre d'ous produït en el germoplasma experimental respecte el del control susceptible estàndard, cogombre per *C. metuliferus*, i síndria per al germoplasma de *Citrullus*. Per identificar germoplasma de *C. metuliferus* resistent a espècies i poblacions de *Meloidogyne* es van portar a terme tres assajos. En el primer d'ells es va avaluar l'entrada de *C. metuliferus* MEBGV11135 per la població Agròpolis de *M. incognita* i *M. javanica* de MJ05, cada combinació germoplasma-població es va repetir 11 vegades. En el segon assaig es van avaluar les entrades MEBGV11135 i MEBGV10762 per les mateixes poblacions utilitzades en l'assaig anterior, cada combinació germoplasma-població es va repetir 10 vegades. En el tercer assaig, es va avaluar l'entrada MEBGV11135 per dos poblacions de *M. incognita* (Garriga i Agròpolis), tres de *M. javanica* (MJ05, Tugues i Bay), i la població MA 68 de *M. arenaria*, cada combinació germoplasma -població es va repetir 15 vegades. Per identificar germoplasma de *C. lanatus* var. *citroides* i de *C. Colocynthis* resistent a espècies i poblacions de *Meloidogyne* es van dur a terme dos assajos. En el primer d'ells es van avaluar les entrades CIAN63, CIBGV5167 i CIBGV5264 de *C. lanatus* var. *citroides*, i l'entrada COLPAS18059 de *C. Colocynthis* per la població Agròpolis de *M. incognita* i *M. javanica* de MJ05, cada combinació germoplasma-població es va repetir 10 vegades. En el segon assaig es van avaluar les entrades CIAN 63, CI BGV5167 i CIBGV5264 de *C. lanatus* var. *citroides* per dos poblacions de *M. incognita* (Garriga i Agròpolis), tres de *M. javanica* (MJ05, Tugues i Badia), i la població MA 68 de *M. arenaria*, cada combinació germoplasma-població es va repetir 15 vegades. Les entrades de *C. metuliferus*, en el conjunt dels assajos, es van mostrar altament resistents (IR <1%) o molt resistents (IR = 1% - 10%) segons la població del nematode. En relació al germoplasma de *C. lanatus* var. *citroides*, la majoria de les entrades assajades es van mostrar molt resistents (IR = 1% - 10%), excepte l'entrades CIAN63, que es va mostrar amb resistència intermèdia (IR = 11% - 25%) segons la població del nematode. *C. Colocynthis* es va comportar com moderadament resistent (IR = 26% - 50%) a *M. incognita*.

Abstract

Several pot experiments were carried out to identify resistant germplasm to *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, and *M. javanica* in accessions of *Cucumis metuliferus*, *Citrullus lanatus* var. *citroides*, and *C. colocynthis*. The accessions of *Cucumis metuliferus* MEBGV11135 and MEBGV10762; the *C. lanatus* var. *citroides* CIAN63, CIBGV5167 and CIBGV5264, and the *C. colocynthis* COL PAS18059 were used. Experiments were carried out in 200 cm³ pots containing sterilized sand. Plants were inoculated with 1 second-stage juvenil cm⁻³ a week after transplanting. Plants were maintained in a growth chamber at 25 ± 2 °C and 16:8 h light:darkness until the nematode completed one generation. The cucumber cv. Dasher II and the watermelon cv. Sugar baby were included as *Meloidogyne spp.* susceptible standard for comparison. At the end of the experiments, the number of egg masses and number of eggs for plant were assessed, and the reproduction index was calculated as the percentage of eggs produced in the experimental germplasm respect those produced in the susceptible control standard. That is, cucumber to *C. metuliferus*, and watermelon to *Citrullus*. Three experiments were carried out to identifying resistance in *C. metuliferus*. In the first experiment the accession MEBGV11135 was assessed against the *M. incognita* population Agròpolis and the *M. javanica* population MJ05. Each accession-*Meloidogyne* combination was replicated 11 times. In the second experiment, the accessions MEBGV11135 and MEBGV10762 were assessed against the same nematode populations used in the first one. Each accession-*Meloidogyne* combination was replicated 10 times. In the third experiment, the accession MEBGV11135 was assessed against two *M. incognita* populations (Garriga and Agròpolis), three of *M. javanica* (MJ05, Tugues and Bay), and the population MA 68 of *M. arenaria*. Each accession-*Meloidogyne* combination was replicated 15 times. In relation to identifying resistant germplasm in *C. lanatus* var. *citroides* and *C. colocynthis* against *Meloidogyne* species and populations, two experiments were conducted. The first experiment the accessions CIAN 63, CI BGV5167 and CIBGV5264 of *C. lanatus* var. *citroides*, and COLPAS18059 of *C. colocynthis* were assessed against the populations Agròpolis of *M. incognita* and MJ05 of *M. javanica*. Each accession-*Meloidogyne* combination was replicated 10 times. In the second experiment, the accessions CIAN63, CIBGV5167 and CIBGV5264 of *C. lanatus* var. *citroides* were assessed against two *M. incognita* populations (Garriga and Agròpolis), three of *M. javanica* (MJ05, Tugues and Bay), and the population MA 68 of *M. arenaria*. Each accession-*Meloidogyne* combination was replicated 15 times.

The accessions of *C. metuliferus* were, in general, highly (IR < 1%) to very resistant (IR = 1% - 10%) depending on the nematode population. In relation to *C. lanatus* var. *citroides*, the majority of accessions were very resistant (IR = 1% - 10%) to the nematode populations assessed, except accession CIAN 63 that were intermediate resistance (IR = 11% - 25%) against some nematode population. *C. colocynthis* was moderately resistant (IR = 26% - 50%) to *M. incognita*.

Índice

1. INTRODUCCIÓN	8
2. OBJETIVO	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1. Material vegetal	12
3.2. Poblaciones de <i>Meloidogyne</i> y obtención de inóculo	13
3.3. Ensayos	15
3.3.1. Identificación de germoplasma de <i>Cucumis metuliferus</i> resistente a especies y poblaciones de <i>Meloidogyne</i>	16
3.3.2. Identificación de germoplasma de <i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i> y de <i>C. colocynthis</i> resistente a especies y poblaciones de <i>Meloidogyne</i>	17
3.4. Tratamiento de los datos	17
4. RESULTADOS	18
4.1. Identificación de germoplasma de <i>Cucumis metuliferus</i> resistente a especies y poblaciones de <i>Meloidogyne</i>	18
4.2. Identificación de germoplasma de <i>Citrullus lanatus</i> var. <i>citroides</i> y de <i>C. colocynthis</i> resistente a especies y poblaciones de <i>Meloidogyne</i>	21
5. DISCUSIÓN	24
6. CONCLUSIONES	26
7. BIBLIOGRAFÍA	27

Índice de figuras

- Figura 1** a) Estufa y cámara húmeda envueltas de papel aluminio; b) *C.metuliferus* BGV 11135 pregerminada; c) bandeja de alveolos con vermiculita autoclavada y semillas para sembrar. _____ 12
- Figura 2** a) Testigo de pepino para trasplantar b) contenedor de 200 cm³ , d) planta trasplantada y tutorada. _____ 13
- Figura 3** Raíces infectadas de *M.arenaria*, *M.incognita* o *M.javanica*. _____ 13
- Figura 4** Extracción de huevos de *Meloidogyne* de raíz según el método de Hussey y Barker (1973). _____ 14
- Figura 5** Izquierda, una parte de la cámara en donde se muestra las estanterías y el tipo de iluminación; derecha sonda (Campbell Scientific Ltd. ©) que registra la Tª del sustrato. 15
- Figura 6** Clasificación de la respuesta de resistencia frente a *Meloidogyne* basada en el índice de reproducción (IR%) del nematodo calculado como la reproducción del nematodo en una planta resistente respecto a la reproducción en un control susceptible de referencia (Taylor, 1967). _____ 16
- Figura 7** a) Vaso de precipitados con disolución erio glucina, b) testigo de pepino Dasher II con masa de huevos teñidas ,c) comparación de pepino Dasher II (inferior) con masas de huevos y malformaciones en la raíz, y *C.metuliferus* inoculada con *M. javanica* (superior) sin masas de huevos. _____ 16

Índice de tablas

- Tabla 1.** Número de masas de huevos y de huevos por planta de *Meloidogyne incognita* y *M. javanica* en el pepino cv. Dasher II y la entrada MEBGV 11135 de *C. metuliferus*, e índice de resistencia (IR%)._____18
- Tabla 2.** Número de masas de huevos y de huevos por planta de *Meloidogyne incognita* y *M. javanica* en el pepino cv. Dasher II y las entradas MEBGV10762 y MEBGV 11135 de *C. metuliferus*, e índice de resistencia (IR%)._____18
- Tabla 3.** Número de masas de huevos y de huevos por planta de una población de *Meloidogyne arenaria*, dos de *M. incognita* y tres de *M. javanica* en el pepino cv. Dasher II y la entrada MEBGV 11135 de *C. metuliferus*, e índice de resistencia (IR%)._____19
- Tabla 4.** Número de masas de huevos y de huevos por planta de una población de *Meloidogyne arenaria*, dos de *M. incognita* y tres de *M. javanica* en el pepino cv. Dasher II y en la entrada MEBGV 11135 de *C. metuliferus*._____20
- Tabla 5.** Número de masas de huevos, huevos por planta e índice de reproducción (IR) de sandía cv. Sugar baby y líneas de *C. lanatus* var. *citroides* (CI) y de *C. colocynthis* (COL)._____21
- Tabla 6.** Número de masas de huevos, huevos por planta e índice de reproducción (IR%) de sandía cv. Sugar baby y líneas de *C. lanatus* var. *citroides* (CI) frente a las diferentes poblaciones de *Meloidogyne spp.*_____22
- Tabla 7.** Número de masas de huevos y huevos por planta de sandía cv. Sugar Baby, líneas de *C. lanatus* var. *citroides* (CI) frente a las diferentes poblaciones de *Meloidogyne spp.*_____23

Lista de abreviaturas

MI	<i>Meloidogyne incognita</i>
MJ	<i>Meloidogyne javanica</i>
MA	<i>Meloidogyne arenaria</i>
J2	Juveniles de segundo estadio
IR	Índice de reproducción
CI	<i>Citroides</i>
COL	<i>Colocynthis</i>
ME	<i>Metuliferus</i>

1. Introducción

Las hortalizas y verduras juegan, por sus cualidades nutritivas, un papel trascendental en el equilibrio de nuestra dieta. La familia de las cucurbitáceas incluye especies de gran interés agrícola pertenecientes a los géneros *Cucumis*, *Citrullus* y *Cucurbita*. El género *Cucumis* incluye el pepino (*C. sativus* L.) y el melón (*C. melo* L.). El género *Cucurbita* incluye la calabaza (*C. maxima* Dusch y *C. maxima* var. *moschata* Dusch) y calabacín (*C. pepo* L.), y el género *Citrullus* la sandía (*C. lanatus* var. *lanatus* (Thunb) Matsum. & Nakar).

El origen de estas especies de cucurbitáceas está distribuido en diferentes zonas. El pepino es originario de Asia, entre la bahía de Bengala y la cordillera del Himalaya, y se distribuyó al este de China, oeste de Asia Menor, norte de África y Europa. El origen del melón lo sitúan en el sur de África o en Asia según diversos autores (Harlan *et al.* 1997; Trentini, 1998; Silberstein *et al.* 1999). La sandía es originaria de África Central, siendo los egipcios antiguos los primeros en cultivarla. El origen del calabacín y la calabaza lo sitúan en el sur y centro de México.

La superficie cultivada de cucurbitáceas fue de 8,7 millones de hectáreas, y la producción de 227×10^6 toneladas, siendo China el mayor productor, seguidas de Turquía e Irán. En Europa se destinan 745.000 ha y se producen 16×10^6 T. España se encuentra en cuarta posición, destinando 69.800 ha con una producción de 3×10^6 T (FAOSTAT, 2012).

El cultivo de cucurbitáceas requiere de climas cálidos y suaves con temperaturas diurnas entre el 20-30°C y nocturnas de 18-23°C. En estas condiciones, son diversos los agentes patógenos que pueden afectar los cultivos, entre ellos los causantes de enfermedades de suelo, como hongos y nematodos fitoparásitos. Dichas enfermedades se han venido controlando mediante la desinfección del suelo con fumigantes. Sin embargo, el desarrollo de sistemas de producción sostenibles y de bajo impacto ambiental, como son la producción integrada y la producción ecológica, hace necesario la búsqueda de alternativas a la desinfección, ya que restringen y prohíben ésta práctica, respectivamente. Entre las diversas alternativas se encuentra el empleo de variedades o portainjertos resistentes.

Las primeras investigaciones con portainjertos de hortalizas se hicieron en la década de los años 20, del siglo pasado, en Japón para identificar resistencia a la fusariosis de la sandía causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* Snyder & Hansen. Inicialmente se utilizó *Cucurbita moschata*, pero pronto se sustituyó por *Lagenaria siceraria* y *Benincasa hispida* (Tateishi de 1927; Sato y Takamatsu, 1930; Kijima de 1933; Murata y Ohara, 1936; Sakata *et al.*, 2007). Desde entonces, la búsqueda de potenciales portainjertos resistentes frente a otros agentes causantes de enfermedades de suelo, entre los que se encuentran los nematodos fitoparásitos del género *Meloidogyne*, ha ido en aumento.



Meloidogyne spp. es un género de nematodo endoparásito sedentario con un amplio rango de plantas huésped (Verdejo-Lucas y Castillo, 2011). De las más de 90 especies que incluye el género, *M.javanica*, *M.incognita* y *M.arenaria*, constituyen el principal problema nematológico de la horticultura española (Rodríguez Rodríguez, 1984; Sorribas y Verdejo-Lucas, 1994; Navas *et al.*, 2001; Robertson *et al.*, 2006; Téliz *et al.* 2007). En España, las pérdidas máximas de producción causadas por *Meloidogyne spp.* en cultivos hortícolas se estiman en 88% en pepino, 60% en tomate, 39% en calabacín, 37% en sandía, y 30% en lechuga (Giné *et al.*, 2014; López-Gómez *et al.*, 2014; Sorribas *et al.*, 2005; Talavera *et al.*, 2009; Vela *et al.*, 2014; Verdejo-Lucas *et al.*, 1994). La magnitud de las pérdidas depende fundamentalmente de las densidades de población del nematodo en suelo en pretrasplante del cultivo, de la susceptibilidad del cultivo y de las condiciones medioambientales, principalmente de la temperatura del suelo que condiciona en gran medida el desarrollo de los nematodos (Sorribas y Verdejo-Lucas, 2011). *Meloidogyne* es considerado uno de los principales patógenos limitantes del cultivo de cucurbitáceas en invernadero, principalmente melón (Ko, 1999; Ploeg y Phillips, 2011; Kim y Ferris, 2002), y pepino (Giné *et al.*, 2014). La sandía es un huésped pobre del nematodo (López-Gómez *et al.*, 2014). Sin embargo, los problemas se acentúan cuando se cultiva injertada sobre híbridos de *Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata* ya que a pesar de ser resistente a *F. oxysporum f. s. niveum*, es susceptible al nematodo (Kim y Ferris, 2002; Giné *et al.*, 2016; López-Gómez *et al.*, 2016). A pesar de ello, los portainjertos híbridos de calabaza (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*) son los más utilizados comercialmente en Europa (Lee *et al.* 2010), por lo que es necesario identificar germoplasma resistente para restringir el desarrollo de las poblaciones del nematodo y contribuir a diseñar estrategias de rotación que mantengan las densidades a niveles que no causen daño económico.

De entre los potenciales portainjertos de cucurbitáceas (Davis *et al.*, 2008), se han identificado algunas entradas de *C. metuliferus* resistentes a *Meloidogyne* (Igarashi *et al.*, 1987; Lee *et al.* 2010; Kokalis-Burelle and Rosskopf 2011; Thies *et al.* 2012), y compatibles con algunos tipos de melón (Sigüenza *et al.* 2005; Gisbert *et al.* 2014; Guan *et al.* 2014). El nematodo experimenta un retraso en su desarrollo, y al alcanzar el estadio adulto, la proporción de machos incrementa respecto a la observada en melón (Fassulotis, 1970), síntoma de que las condiciones son adversas para el desarrollo del nematodo, dada su reproducción partenogenética. *Cucumis metuliferus*, conocido como pepino africano o melón africano espinoso, contiene una concentración alta de cucurbitacinas que afectan el comportamiento y desarrollo de *Meloidogyne* (Haynes y Jones, 1976). Ésta especie ha sido ensayada para injertar melón, pepino (Davis *et al.*, 2008), pero todavía no hay ningún patrón comercial. Como patrón exclusivo de sandía se han probado diversas especies de *Citrullus* resistentes al nematodo, como *C. lanatus* var. *citroides* (Thies y Levis, 2003 y 2007; Thies *et al.*, 2010) y *Citrullus colocynthis* (Thies *et al.*, 2016).

La identificación de resistencia en un amplio rango de entradas de germoplasma de una especie es necesaria para conseguir los mejores candidatos que expresen el carácter deseado,

que sean compatibles con la mayoría de tipos y cultivares de la especie cultivada, y se adapten a las condiciones edafoclimáticas del área de producción. En el año 2014 se inició una colaboración con las doctoras Carmina Gisbert y Maria Belén Picó del Centro de Conservación y Mejora de la Agrobiodiversidad Valenciana, de la Universitat Politècnica de València, que dispone de 3227 entradas de cucurbitáceas, y quienes nos facilitaron las semillas que se utilizaron para realizar el presente trabajo.



2. Objetivo

Los objetivos de este trabajo fueron:

1. Identificar germoplasma de *Cucumis metuliferus* resistente a especies y poblaciones de *Meloidogyne*.
2. Identificar germoplasma de *Citrullus lanatus* var. *citroides* y de *Citrullus colocynthis* resistente a especies y poblaciones de *Meloidogyne*.
3. Determinar la variabilidad de poblaciones de *Meloidogyne*.

3. Materiales y métodos

3.1. Material vegetal

Para realizar los diferentes ensayos se utilizó germoplasma de diferentes especies cedido por el Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV) de la Universidad Politécnica de Valencia. Concretamente, *Cucumis metuliferus*, potencial portainjertos para pepino y melón, entradas MEBGV11135, MEBGV10762; *Citrullus lanatus* var. *citroide* entradas CIAN63, CIBGV5167, CIBGV5264 y *Citrus lanatus* var. *colocynthis* entrada COLPAS18059, potenciales portainjertos para sandía. Además, se incluyeron el cultivar de pepino Dasher II, y de sandía Sugar Baby, como entradas susceptibles de referencia para comparar.

Las semillas fueron desinfectadas superficialmente en un baño de lejía comercial (35g/l de cloro activo) al 20% durante 2min. Posteriormente se pasaron por dos baños de agua destilada durante 2 min con el propósito de eliminar los restos de lejía. Seguidamente, se transfirieron a cámara húmeda con algodón y dos círculos de papel de filtro uno sobre el algodón y otro sobre semilla, se humedecieron bien sin encharcar, se recubrieron con papel de aluminio y se incubaron 37 °C durante 48 horas (Fig.1).

Seguidamente, las semillas germinadas se trasplantaron en vermiculita estéril (1h 121 °C) en bandejas de semillero. Las no germinadas se abrieron con pinzas con el propósito de romper la cutícula para ayudarlas a germinar (Fig.1).

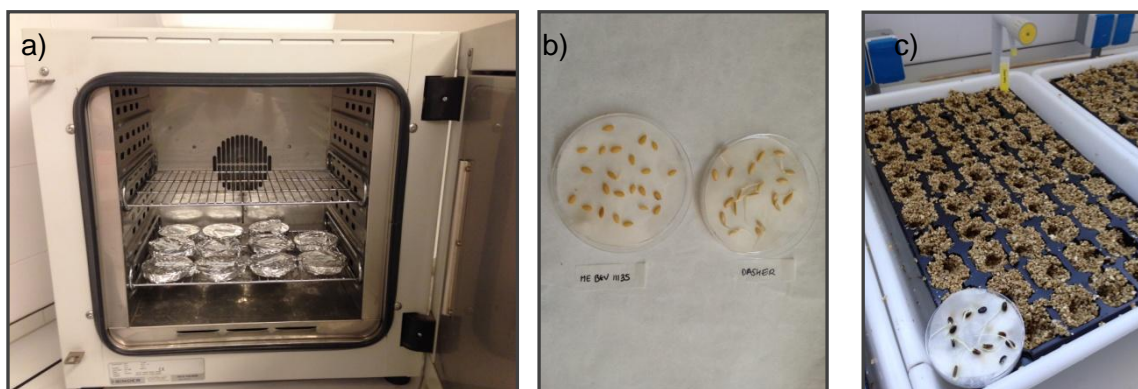


Figura 1 a) Estufa y cámara húmeda envueltas de papel aluminio; b) *C. metuliferus* BGV 11135 pregerminada; c) bandeja de alveolos con vermiculita autoclavada y semillas para sembrar.

Fuente: propia

Una vez sembradas en las bandejas se colocaron en la cámara climática a una temperatura de 25 ± 2 °C y un fotoperiodo de 16:8 h (luz: oscuridad). Cuando las plantas presentaron la primera hoja verdadera expandida se trasplantaron en contenedores de 200 cm³ con arena de riera autoclavada durante 1 hora a 121°C. Pasados 4 días se tutoraron con cañas o estacas de plástico (Fig.2)

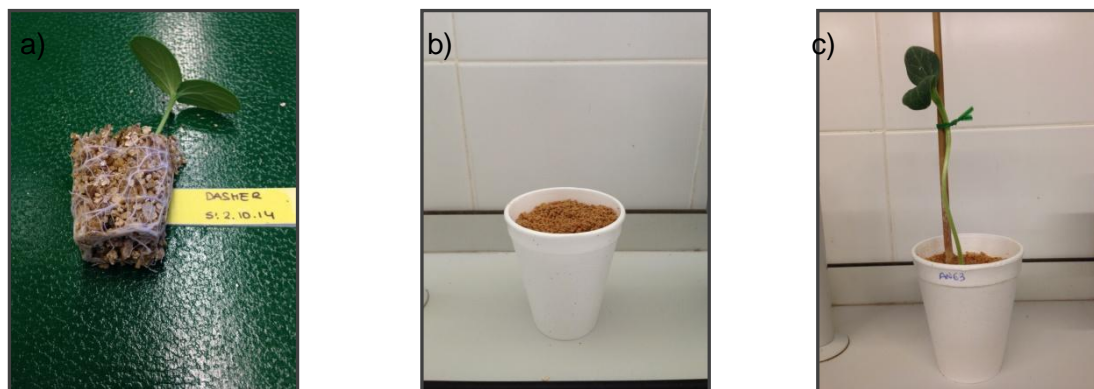


Figura 2 a) Testigo de pepino para trasplantar b) contenedor de 200 cm³, d) planta trasplantada y tutorada.

Fuente: propia

3.2. Poblaciones de *Meloidogyne* y obtención de inóculo

Para la realización de los ensayos se utilizaron diversas poblaciones pertenecientes a *M. arenaria*, *M. incognita*, y *M. javanica* que se mantenían en cultivo de tomate (Fig 3) en contenedores en Agropolis. La identificación de las especies se realizó mediante características morfológicas del modelo perianal de hembras adultas (De Man, 1880).

El inóculo utilizado para el desarrollo de los ensayos consistió en juveniles de segundo estadio (J2). Para ello se extrajeron huevos de las raíces mediante el método Hussey y Barker (1973).



Figura 3 Raíces infectadas de *M.arenaria*, *M.incognita* o *M.javanica*.

Fuente: propia

En resumen, las raíces se lavaron y cortaron en pequeños fragmentos. Posteriormente, se añadió unos 200 ml de agua destilada con cloro comercial al 5% (lejía comercial) en una batidora – licuadora (Hamilton Beach BlendMaster) y se trituraron a intervalos de 10 segundos de velocidad repitiendo la operación tres veces (Hussey y Barker,1973). (Fig.4). Las paredes se aclararon con solución de lejía al 5% (35 g l^{-1} de cloro activo). La suspensión se dejó reposar durante 10 min para dejar actuar el NaClO para disolver las masas gelatinosas que aglutinan los huevos. El resultado de la trituración se pasó por 3 tamices superpuestos de 150μ , 75μ y 25μ de apertura de malla (superior a inferior; Fig.4). Los huevos retenidos en el tamiz de 25μ se recogieron en viales y posteriormente fueron dispensados en bandejas de Baermann para permitir la emergencia de los juveniles J2. Al cabo de una semana se concentraron los juveniles en un tamiz de 25μ , se transfirieron a un vial y se contabilizaron al microscopio óptico utilizando una cámara de recuento tipo Hawksley.



Figura 4 Extracción de huevos de *Meloidogyne* de raíz según el método de Hussey y Barker (1973).
Fuente: propia

3.3. Ensayos

Todos los ensayos se realizaron siguiendo un mismo patrón que se describe a continuación. Las plantas fueron trasplantadas en contenedores de 200 cm³ de capacidad que contenían arena esterilizada cuando tenían la primera hoja bien desarrollada se dispusieron en cámara climática a 25 ± 2 °C de temperatura y 16:8 h de fotoperiodo (luz:oscuridad) (Fig 5). Las plantas fueron fertilizadas con un gramo de abono de liberación lenta (Osmocote plus ©: 18-10-10 de NPK + 0,2 de Magnesio y oligoelementos) depositado en la superficie del sustrato, y eran regadas manualmente cuando era necesario. Al cabo de una semana del trasplante las plantas fueron inoculadas a razón de 1 J2 cm⁻³ de sustrato. El inóculo se introducía en dos agujeros opuestos de 2 cm de profundidad practicados a 1 cm de distancia del tallo, que fueron tapados después de inocular. La temperatura del sustrato a 4 cm de profundidad se registró a intervalos de 30 minutos con una sonda PT100 (Campbell Scientific Ltd. ©) (Fig 5). La duración de los ensayos fue suficiente para que el nematodo completase una generación según los requerimientos térmicos (Giné *et al.*, 2014; López-Gómez *et al.*, 2014).



Figura 5 Izquierda, una parte de la cámara en donde se muestra las estanterías y el tipo de iluminación; derecha sonda (Campbell Scientific Ltd. ©) que registra la T^º del sustrato.
Fuente: propia

Al finalizar los ensayos, se separaron las raíces del sustrato, se lavaron para eliminar los restos de arena, se secaron suavemente para evitar desprender las masas de huevo y se pesaron. A continuación, se sumergieron en una solución de 15 mg l⁻¹ de erioglaucina (Acros Organics ©) durante 20 minutos para teñir de azul las masas de huevos (Fig 6) y facilitar el recuento de las mismas (Omweaga *et al.*, 1988). Posteriormente, se extrajeron los huevos de las raíces según el método de Hussey y Barker (1973) descrito anteriormente. El número de huevos contenido en 1 ml de la suspensión se contabilizó al microscopio óptico en una cámara de recuento tipo Hawksley. Finalmente, se calculó el índice de resistencia (IR) según el porcentaje del número de huevos por planta producido en el germoplasma experimental respecto al producido en el susceptible estándar, el pepino cv. Dasher II para evaluar el germoplasma de *Cucumis*, y la sandía cv. Sugar baby para evaluar el gemoplasma de *Citrullus*, para asignar el nivel de resistencia según la clasificación de Taylor (1967)(Fig.6).

Categoría	Índice de reproducción %
Altamente resistente	IR<1%
Muy resistente	1% ≤ IR < 10%
Resistencia intermedia	10% ≤ IR < 25%
Moderadamente resistente	25% ≤ IR < 50%
Susceptible	IR > 50%

Figura 6 Clasificación de la respuesta de resistencia frente a *Meloidogyne* basada en el índice de reproducción (IR%) del nematodo calculado como la reproducción del nematodo en una planta resistente respecto a la reproducción en un control susceptible de referencia (Taylor, 1967).

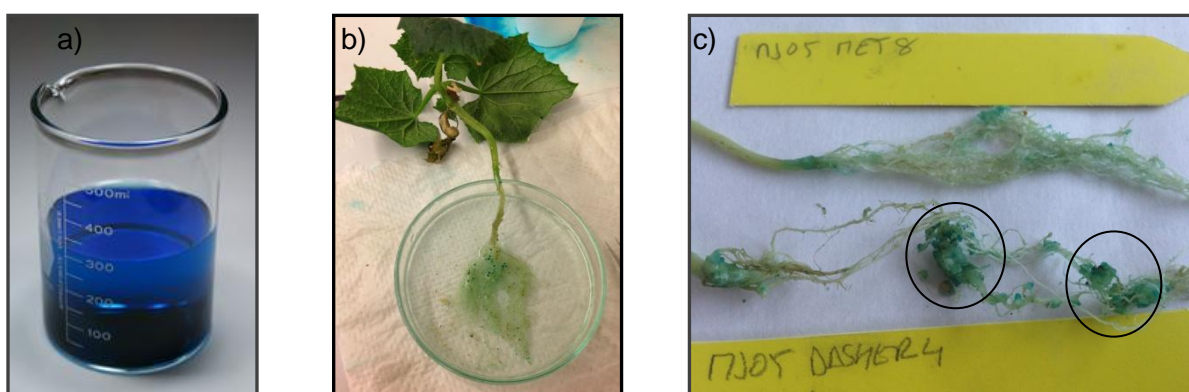


Figura 7 a) Vaso de precipitados con disolución erioglaucina, b) testigo de pepino Dasher II con masa de huevos teñidas, c) comparación de pepino Dasher II (inferior) con masas de huevos y malformaciones en la raíz, y *C.metuliferus* inoculada con *M. javanica* (superior) sin masas de huevos.

Fuente: propia

3.3.1. Identificación de germoplasma de *Cucumis metuliferus* resistente a especies y poblaciones de *Meloidogyne*

Se llevaron a cabo tres ensayos. En el primero de ellos se evaluó la entrada de *C. metuliferus* MEBGV11135 frente a la población Agròpolis de *M. incognita* y MJ05 de *M. javanica*, cada combinación germoplasma-población se repitió 11 veces. En el segundo ensayo se evaluaron las entradas MEBGV11135 y MEBGV10762 frente a las mismas poblaciones utilizadas en el primer ensayo, cada combinación germoplasma-población se repitió 10 veces. En el tercer ensayo, se evaluó la entrada MEBGV11135 frente dos poblaciones de *M. incognita* (Garriga y Agròpolis), tres de *M. javanica* (MJ05, Tugues y Bay), y la población MA 68 de *M. arenaria*, cada combinación germoplasma-población se repitió 15 veces.

3.3.2. Identificación de germoplasma de *Citrullus lanatus* var. *citroides* y de *C. colocynthis* resistente a especies y poblaciones de *Meloidogyne*

Se llevaron a cabo dos ensayos. En el primero de ellos se evaluaron las entradas CIAN63, CIBGV5167 y CIBGV5264 de *C. lanatus* var. *citroides*, y la entrada COLPAS18059 de *C. colocynthis* frente a la población Agròpolis de *M. incognita* y MJ05 de *M. javanica*, cada combinación germoplasma-población se repitió 10 veces. En el segundo ensayo se evaluaron las entradas CIAN63, CIBGV5167 y CIBGV5264 de *C. lanatus* var. *citroides* frente dos poblaciones de *M. incognita* (Garriga y Agròpolis), tres de *M. javanica* (MJ05, Tugues y Bay), y la población MA 68 de *M. arenaria*, cada combinación germoplasma-población se repitió 15 veces.

3.4. Tratamiento de los datos

Los datos de número de masas de huevos y número de huevos por planta se transformaron a $\log_{10}(x+1)$ y se compararon mediante la t de Student respecto el control susceptible estándar. Así mismo, se comparó entre entradas de germoplasma experimental, así como entre poblaciones de *Meloidogyne* para un mismo germoplasma experimental, cuando sólo había dos entradas de germoplasma o poblaciones del nematodo. En caso de haber más de dos, la comparación entre entradas de germoplasma, así como entre poblaciones del nematodo para un mismo germoplasma se realizó mediante análisis de varianza. Cuando el análisis era significativo, las medias se separaron mediante la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD).

4. Resultados

4.1. Identificación de germoplasma de *Cucumis metuliferus* resistente a especies y poblaciones de *Meloidogyne*

El número de masas de huevos y de huevos por planta en la entrada MEBGV11135 de *C. metuliferus* fue menor ($P < 0,05$) que en el pepino cv. Dasher II, independientemente de la especie (Tabla 1) y poblaciones del nematodo (Tabla 3). El mismo resultado se observó en el segundo ensayo con la entrada MEBGV10762, que además, no difirió de la entrada MEBGV 11135 (Tabla 2). Sin embargo, MEBGV 11135 mostró un comportamiento más constante que MEBGV10762 en la que el porcentaje de reproducción de MJ respecto a la observada en pepino fue 10 veces superior al de MI (Tabla 2), por lo que se seleccionó la entrada MEBGV 11135 para el tercer ensayo.

Tabla 1. Número de masas de huevos y de huevos por planta de *Meloidogyne incognita* y *M. javanica* en el pepino cv. Dasher II y la entrada MEBGV 11135 de *C. metuliferus*, e índice de resistencia (IR).

Especie nematodo	Germoplasma	nº masas/planta	nº huevos/planta	IR (%)
<i>M.incognita</i>	MEBGV 11135	0,1±0,1 B	5 ±5 B	1 ± 1
	Dasher II	3,3±1,3 A*	654±315 A	
<i>M.javanica</i>	MEBGV 11135	0,7±0,3 B	94±85 B	9 ± 8
	Dasher II	23,6 ±7,1 A	2211±16 A	

Cada resultado es el promedio ± error estándar de 11 repeticiones. Letras mayúsculas diferentes en cada columna y especie de nematodo indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre cultivos según la prueba t de Student. * en cada columna indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre especies de *Meloidogyne* para un mismo germoplasma según la prueba t de Student.

Tabla 2. Número de masas de huevos y de huevos por planta de *Meloidogyne incognita* y *M. javanica* en el pepino cv. Dasher II y las entradas MEBGV10762 y MEBGV 11135 de *C. metuliferus*, e índice de resistencia (IR%).

Especie nematodo	Germoplasma	nº masas/planta	nº huevos/planta	IR %
<i>M.incognita</i>	MEBGV10762	1±0,2 B*	208±86 B*	0,4±0,2
	MEBGV11135	2±0,5 B	366±109 B	
	Dasher	78±9,7 A*	52601±7191 A	
<i>M.javanica</i>	MEBGV10762	4 ±0,6 B	1605±406 B	4±1
	MEBGV11135	1±0,2 B	431±126 B	1±3
	Dasher	44±13,6 A	40705±11767 A	

Cada resultado es el promedio ± error estándar de 10 repeticiones. Letras mayúsculas diferentes en cada columna y especie de nematodo indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre germoplasma según la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD). * en cada columna indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre especies de *Meloidogyne* para un mismo germoplasma según la prueba t de Student.



Tabla 3. Número de masas de huevos y de huevos por planta de una población de *Meloidogyne arenaria*, dos de *M. incognita* y tres de *M. javanica* en el pepino cv. Dasher II y la entrada MEBGV 11135 de *C. metuliferus*, e índice de resistencia (IR%).

Especie nematodo	Población	Germoplasma	nº masas/planta	nº huevos/planta	IR %
<i>M.arenaria</i>	MA68	MEBGV11135	1±0,3 B	28±13 B	8±4
		Dasher II	58±3,2 A	390±128 A	
<i>M.incognita</i>	Agropolis	MEBGV11135	2±0,3 B	468±107 B	1±1
		Dasher II	35±4,9 A	17800±3061 A	
	Garriga	MEBGV11135	4±0,7 B	859±217 B	4±2
		Dasher II	32±0,3 A	15722±1752 A	
<i>M.javanica</i>	Bay	MEBGV11135	0,4±0,2 B	8±5 B	0±0
		Dasher II	11±1,2 A	3239±676 A	
	MJ05	MEBGV11135	3±0,6 B	360±89 B	7±2
		Dasher II	33±1,2 A	5116±1395 A	
	Tugues	MEBGV11135	0,3±0,2 B	64±34 B	3±2
		Dasher II	19±2,4 A	6838±972 A	

Cada resultado es el promedio ± error estándar de 15 repeticiones. Letras mayúsculas diferentes en cada columna por población de nematodo indican diferencias significativas (P<0,05) entre germoplasma según la prueba t de Student.

Las poblaciones de *Meloidogyne* ensayadas difirieron en su capacidad infectiva i reproductora, tanto en la entrada MEBGV 11135 de *C. metuliferus*, como en el pepino cv Dasher II (Tabla 4). Las dos poblaciones de *M. incognita* y la población MJ05 de *M. javanica*, produjeron el mayor número de masas de huevo. Sin embargo, sólo la población Garriga de *M. incognita* produjo más huevos. En el pepino cv. Dasher II, la población de *M. arenaria* tuvo mayor capacidad para infectar y desarrollarse, pero no de reproducirse, siendo ambas poblaciones de *M. incognita* las que produjeron un mayor número de huevos (Tabla 4).

En el conjunto de ensayos, las entradas de *C. metuliferus* ensayadas se mostraron altamente resistentes (1% < IR) o muy resistentes (1% ≤ IR ≤ 10%) según la población del nematodo (Tablas 1, 2 y 3).

Tabla 4. Número de masas de huevos y de huevos por planta de una población de *Meloidogyne arenaria*, dos de *M. incognita* y tres de *M. javanica* en el pepino cv. Dasher II y en la entrada MEBGV 11135 de *C. metuliferus*.

Germoplasma	Especie nematodo	Población	nº masas/planta	nº huevos/planta
ME BGV11135	<i>M.arenaria</i>	MA68	1±0,3 B	28± 13 CD
	<i>M.incognita</i>	Agropolis	2±0,3 A	467± 107 B
		Garriga	4± 0,7 A	859± 217 A
	<i>M.javanica</i>	Bay	0,4± 0,2 B	8± 5 D
		MJ05	3± 0,6 A	360±89 B
		Tugues	0,3± 0,2 B	64± 34 C
Dasher II	<i>M.arenaria</i>	MA68	58± 3,2 A	390± 128 D
	<i>M.incognita</i>	Agropolis	35± 4,9 B	17800± 306 A
		Garriga	32± 0,3B	15721± 1752 A
	<i>M.javanica</i>	Bay	11± 1,2D	3238± 676 C
		MJ05	33± 1,2B	5116± 1395 BC
		Tugues	19± 2,4C	6837± 972 B

Letras mayúsculas diferentes en cada columna por cada cultivo indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre poblaciones de *Meloidogyne* spp. según la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD).

4.2. Identificación de germoplasma de *Citrullus lanatus* var. *citroides* y de *C. colocynthis* resistente a especies y poblaciones de *Meloidogyne*.

El número de J2 que alcanzaron a infectar, desarrollar y producir masas de huevos en las entradas de *C.lanatus* var.*citroides* y *C.colocintys* fue menor ($P < 0,05$) que en el cv. Sugar Baby, independientemente de la especie (Tabla 5) y poblaciones del nematodo (Tabla 6). Respecto los potenciales patrones de *C.lanatus citroides*, CIAN63, CIBGV5264 y CIBGV5157, mostraron un comportamiento más estable en el porcentaje de reproducción de MJ y MI (Tabla 5, 6). Sin embargo, COLPAS18059 difirió siendo 11 veces superior que CIBGV5264 (Tabla 5), por lo que se seleccionaron las entradas CIAN63, CIBGV5264 y CIBGV5157 para el tercer ensayo.

Tabla 5. Número de masas de huevos, huevos por planta e índice de reproducción (IR) de sandía cv. Sugar baby y líneas de *C. lanatus* var. *citroides* (CI) y de *C. colocynthis* (COL).

Espece nematodo	Germoplasma	nº masas/planta	nº huevos /planta	IR%
<i>M. incognita</i>	CIAN63	4±1 C	2703±844 B	21±0,07
	CIBGV5167	1±0,7 C	468±326 B	4±0,03
	CIBGV5264	1±0,2 C	353±168 B	3±0,01
	COLPAS18059	10±2,0 B	4356±1875 B	34±0,15
	Sugar Baby	17±3,7 A	12693±2671 A	
<i>M. javanica</i>	CIAN63	8±2,7 B	1701±601 B	9±0,03
	CIBGV5167	2±0,7 B	1279±1052 B	7±0,06
	CIBGV5264	1±0,6 B	877±818 B	5±0,05
	Sugar Baby	25±0,8 A	18047±3247 A	

Cada resultado es el promedio ± error estándar de 10 repeticiones. Letras mayúsculas diferentes en cada columna y especie de nematodo indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre germoplasma según la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD). * en cada columna indica diferencias significativas ($P < 0,05$) entre especies de *Meloidogyne* para un mismo germoplasma según la prueba t de Student.

Tabla 6. Número de masas de huevos, huevos por planta e índice de reproducción (IR%) de sandía cv. Sugar baby y líneas de *C. lanatus* var. *citroides* (CI) frente a las diferentes poblaciones de *Meloidogyne* spp.

Especie nematodo	Población	Germoplasma	nº masas/planta	nº huevos/planta	IR%		
<i>M. arenaria</i>	MA68	CIAN63	0,3 ± 0,1 B	50 ± 27 B	1 ± 1		
		CIBGV5264	0,8 ± 0,2 B	145 ± 56 B	4 ± 1		
		CIBGV5167	6,0 ± 1,6 A	126 ± 70 B	3 ± 1		
		Sugar Baby	6,0 ± 1,6 A	3283 ± 1167 A			
<i>M. incognita</i>	Agopolis	CIAN63	0,5 ± 0,2 B	9 ± 4 B	0,4 ± 0,2		
		CIBGV5264	0,5 ± 0,2 B	40 ± 37 B	2 ± 2		
		CIBGV5167	0,4 ± 0,4 B	12 ± 12 B	0,5 ± 0,5		
	Garriga	Sugar Baby	4,9 ± 1,6 A	2388 ± 1368 A			
		CIAN63	0,1 ± 0,1 B	46 ± 42 B	3 ± 3		
		CIBGV5264	0,1 ± 0,1 B	6 ± 3 B	0,5 ± 0,3		
		CIBGV5167	0,0 ± 0,0 B	32 ± 22 B	2 ± 2		
		Sugar Baby	4,2 ± 0,9 A	1203 ± 347 A			
		<i>M. javanica</i>	Bay	CIAN63	0,0 ± 0,0 B	15 ± 12 B	0,4 ± 0,3
				CIBGV5264	0,0 ± 0,0 B	10 ± 4 B	0,3 ± 0,1
CIBGV5167	0,0 ± 0,0 B			29 ± 12 B	0,9 ± 0,4		
Sugar Baby	5,9 ± 1,7 A			3362 ± 1210 A			
MJ05	CIAN63		0,1 ± 0,1 B	5 ± 5 B	0,2 ± 0,2		
	CIBGV5264		0,5 ± 0,2 B	192 ± 100 B	6 ± 3		
	CIBGV5167		0,1 ± 0,1 B	96 ± 85 B	3 ± 3		
	Sugar Baby		5,2 ± 1,0 A	2999 ± 907 A			
Tugues	CIAN63	0,0 ± 0,0 B	0 ± 0 B	0			
	CIBGV5264	0,0 ± 0,0 B	52 ± 49 B	14 ± 13			
	CIBGV5167	0,1 ± 0,1 B	15 ± 8 B	5 ± 3			
	Sugar Baby	0,7 ± 0,3 A	375 ± 166 A				

Cada resultado es el promedio ± error estándar de 15 repeticiones. Letras mayúsculas diferentes en cada columna por población de nematodo indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre germoplasma según la prueba t de Student.

Las poblaciones de *Meloidogyne* ensayadas difirieron en su capacidad infectiva i reproductora, tanto en la entrada CIAN63, CIBGV 5264 y CIBGV 5157 de *C. lanatus* var. *citroides*, como en el pepino cv Sugar Baby (Tabla 8). Las poblaciones de *M. arenaria* y la población Agropolis de *M. incognita*, produjeron el mayor número de masas de huevo. Sin embargo, sólo la población MA68 de *M. arenaria* produjo más huevos. En la sandia cv. Sugar Baby, la población de *M. arenaria* y la población Bay de *M. incognita* tuvo mayor capacidad para infectar y desarrollarse, así pues, produjeron un mayor número de huevos (Tabla 8).

En el conjunto de ensayos, las entradas de *C. lanatus* var. *citroides* ensayadas se mostraron muy resistentes ($1\% \leq IR \leq 10\%$) según la población del nematodo (Tablas 6,7). *C. colocynthis* se comportó como moderadamente resistente ($25\% \leq IR < 50\%$)(Tabla 5)



Tabla 7. Número de masas de huevos y huevos por planta de sandía cv. Sugar Baby, líneas de *C. lanatus* var. *citroides* (CI) frente a las diferentes poblaciones de *Meloidogyne spp*

<i>Germoplasma</i>	Especie nematodo	Población	nº masas/planta	nº huevos /planta
CIAN63	<i>M.arenaria</i>	MA68	0,3 ±0,1 AB	50±27 A
		Agopolis	0,5±0,2 A	9 ±4 A
	<i>M.javanica</i>	Garriga	0,1± 0,1 BC	46± 42 A
		Bayer	0,0± 0,0 C	15 ±12 A
		MJ05	0,1±0,1 BC	5 ±5 A
		Tugues	0,0±0,0	0±0
CIBGV5164	<i>M.arenaria</i>	MA68	0,8± 0,2 A	145± 56 A
		Agopolis	0,5± 0,2 AB	40± 37 AB
	<i>M.javanica</i>	Garriga	0,1± 0,1 B	6 ±3 B
		Bay	0,0±0,0 B	10± 4 B
		MJ05	0,5±0,2 AB	192± 100 A
		Tugues	0,0 ±0,0 B	52± 49 AB
CIBGV5167	<i>M.arenaria</i>	MA68	6± 1,6 A	126± 70 A
		Agopolis	0,4±0,4 B	12 ±12 A
	<i>M.javanica</i>	Garriga	0,0±0,0 B	32± 22 A
		Bay	0,0±0,0 B	29± 12 A
		MJ05	0,1± 0,1B	96 ±85 A
		Tugues	0,1 ±0,1B	15± 8 A
Sugar Baby	<i>M.arenaria</i>	MA68	6 ±1,6 A	3283±1167 A
		Agopolis	4,9± 1,6 A	2388± 1368 A
	<i>M.javanica</i>	Garriga	4,2± 0,9 A	1203± 347 A
		Bay	5,9± 1,7 A	3362± 1210 A
		MJ05	5,2± 1,0 A	2999± 907 A
		Tugues	0,7± 0,3 B	375± 166 A

Letras mayúsculas diferentes en cada columna por cada cultivo indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre poblaciones de *Meloidogyne spp.* según la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD).

5. Discusión

Los resultados de los ensayos muestran que el germoplasma de *C. metuliferus* y *Citrullus lanatus* var. *citroides* utilizado como potencial porta injertos de cucurbitáceas se comportaron desde altamente resistentes ($1\% < IR$) a muy resistente ($1\% \leq IR \leq 10\%$) frente a especies y poblaciones de *Meloidogyne*. Sin embargo, la entrada de *Citrullus colocynthis* COLPAS18059 se comportó como moderadamente resistente ($25\% \leq IR < 50\%$). Estos resultados proporcionan nueva información sobre entradas de germoplasma diferentes a las caracterizadas previamente (Fassuliotis, 1970; Sigüenza et al., 2005; Thies, 2007). Lo que abre nuevas vías de trabajo para determinar su comportamiento en condiciones de semicampo, la expresión del carácter a temperaturas del suelo mayores a 28 °C, y frente a poblaciones virulentas para otros genes de resistencia en hortalizas, como el gen *Mi* en tomate o el *Me* en pimiento, lo que permitiría disponer de material vegetal útil para diseñar estrategias de rotación que mantengan al nematodo a densidades que no causen daño económico.

La identificación de resistencia en entradas de *C. metuliferus*, *C. lanatus* var. *citroides* y *C. colocynthis* no es una novedad. Esta ha sido reportada por otros autores (Fassuliotis, 1970; Sigüenza et al., 2005; Thies, 2007). En los trabajos realizados con *C. metuliferus*, se observó una reducción del número de agallas, y de reproducción del nematodo, catalogándolo como muy resistente. Así mismo, diversas entradas de *C. lanatus* var. *citroides* y *C. colocynthis* también fueron clasificadas como muy resistentes y moderadamente resistentes, respectivamente, en estudios anteriores (Thies, 2007).

En general, las poblaciones de *M. javanica* mostraron una capacidad parasitaria más variable en el cv. Dasher II y *C. metuliferus*. *M. incognita* mostró una capacidad reproductora más variable para la entrada de *C. metuliferus*.

En este estudio se encontraron diferencias significativas entre poblaciones, comportándose *M. Javanica* i *M. arenaria* con un potencial de reproducción mayor que *M. incognita*.

La reproducción del nematodo en las entradas resistentes, de *Cucumis* y *Citrullus* fue menor, que las registradas en los cultivares susceptibles, Dasher II y Sugar Baby. Sin embargo, aunque la reproducción es baja, esta puede tener importantes repercusiones epidemiológicas debido a las poblaciones residuales del nematodo, que en situaciones de monocultivo podría seleccionar individuos virulentos como se ha comprobado en tomate en condiciones de laboratorio (Bost, 1982; Jarquin – Barberena et al. 1991).

En resumen, *C. metuliferus* y *C. lanatus* var. *citroides* son buenos candidatos como portainjertos, y podrían ser una alternativa a los híbridos de calabaza, *C. maxima* x *C. moschata*, ya que no son resistentes a nematodos. *C. metuliferus* es una buena opción de portainjerto ya que presenta tolerancia a Fusarium, y a algunas virosis de importancia en melón, como ToLCNDV (Picó y Gisbert, 2015). Además, *C. metuliferus* es compatible con algunos tipos de melón, no tiene exceso de vigor ni altera la floración, y a su vez no se detectan alteraciones negativas de la calidad del fruto (Picó y Gisbert, 2015). Como inconveniente, presenta dificultades de manejo por el tamaño de la semilla, la germinación desigual y el reducido tamaño de la plántula. Este último inconveniente puede ser superado realizando la siembra del patrón un tiempo antes de la



siembra de la variedad, para llegar a un mismo tamaño de hipocotíleo en el momento del injerto (Picó y Gisbert, 2015).

Citrullus lanatus var. *citroides* también es un buen candidato para ser usado como portainjerto de sandía ya que muestra buena compatibilidad con *Citrulus lanatus*, mayor producción en cultivares injertados y índices de reproducción bajos para nematodos (Thies, 2015).

A pesar de los resultados obtenidos sería conveniente seguir investigando la compatibilidad patrón-cultivar, morfología y características organolépticas y nutricionales de los frutos, así como el nivel de resistencia y de tolerancia a factores bióticos y abióticos, con el propósito de encontrar un equilibrio entre las exigencias de los agricultores y de los consumidores.

6. Conclusiones

1. Se ha identificado resistencia a *Meloidogyne* en las dos entradas de *C. metuliferus* ensayadas. El nivel que expresan es de, como mínimo, muy resistente independientemente de la especie del nematodo.
2. Se ha identificado resistencia a *Meloidogyne* en las tres entradas de *Citrullus lanatus* var. *citroides*. Todas ellas son muy resistentes a *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria*.
3. *Citrullus colocynthis* es ligeramente resistente a *M. incognita*, por lo que su interés como portainjerto para combatir al nematodo, como único método de control, será reducido.
4. Se ha identificado en las diferentes especies-población variabilidad en su capacidad infectiva, desarrollo y reproductora en la entradas de *C.metuliferus* y cv.Dasher II, en las entradasa *Citrullus lanatus* var. *citroides* y cv.Sugar Baby.

7. Bibliografía

- Cortada, L., Sorribas, F.J., Ornat, C., Andrés, M.F., Verdejo-Lucas, S. (2009). Response of tomato rootstocks carrying the Mi-resistance gene to populations of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* and *M. javanica*. *Eur J Plant Pathol* 124:337–343.
- Davis, A.R., Perkins-Veazie, P., Sakata, Y., López-Galarza, S., Maroto, J.V., Lee, S.G., et al. (2008). Cucurbit grafting. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 27(1), 50-74.
- Faske, T. R. (2013). Penetration, Post-penetration Development, and Reproduction of *Meloidogyne incognita* on *Cucumis melo var. texanus*. *Journal of Nematology* 45(1):58–65.
- G.N. Agrios. *Fitopatología*. Limusna, 2ª edición 2011. Pag. 734-749.
- George, F. (1969). Resistance of *Cucumis spp.* to the Root-Knot nematode; *Meloidogyne Incognita acrita*. *Journal of nematology*, Vol. 2 No. 2.
- Giné, A., López-Gómez, M., Vela, M. D., Ornat, C., Talavera, M., Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J. (2014). Thermal requirements and population dynamics of root-knot nematodes on cucumber and yield losses under protected cultivation. *Plant Pathology* 63, 1446-1453. doi: 10.1111/ppa.12217.
- Giné, A., González, C., Serrano, L., Sorribas, F.J. (2016). Population dynamics of *Meloidogyne incognita* on cucumber grafted onto the *Cucurbita* hybrid RS841 or ungrafted and yield losses under protected cultivation. *European Journal of Plant Pathology*.
- González, F.M., Hernández, A., Casanova, A.T., Depestre, Gómez, L. y G. Rodríguez, M. (2008). El injerto herbáceo: alternativa para el manejo de plagas de suelo. *Rev. Protección Veg.* Vol. 23 No. 2: 69-74.
- Haynes, R. L., Jones, C. M. (1976). Effects of the Bi locus in cucumber on reproduction, attraction, and response of the plant to infection by the southern root-knot nematode. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 101:422–424.
- Hussey, R. S. ; Barker K. R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne spp.*, including a new technique. *Plant Disease Report*, 57:1025-1028.
- Kim, D.G., Ferris, H., (2002). Relationship between crop losses and initial population densities of *Meloidogyne arenaria* in winter-grown oriental melon in Korea. *Journal of Nematology* 34, 43–49.
- King, S. R. ; Angela R. Davis, Wenge Liu, Amnon Levi, October (2008). Grafting for Disease Resistance. *Hort Science*, Vol. 43 No. 6; 1673-1676.
- Lee, J.M., Kubota, C., Tsao, S. J., Bie, Z., Echevarria, P. H., Morra, L., et al. (2010). Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. *Scientia Horticulturae*, 127(2), 93-105.

- López-Gómez, M., Gine, A., Vela, M. D., Ornat, C., Sorribas, F. J., Talavera, M., Verdejo-Lucas, S. (2014). Damage functions and thermal requirements of *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita* on watermelon. *Ann. Appl. Biol.* 165, 466-473 doi:10.1111/aab.12154.
- López-Gómez, Talavera, M., Verdejo-Lucas, S. (2016). Differential reproduction of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* in watermelon cultivars and cucurbit rootstocks. *Plant Pathology* 65, 145-153. doi: 10.1111/ppa.12394.
- Monografías de la Sociedad Española de Fitopatología, varios autores; Enfermedades de las Cucurbitáceas en España; (1994); p:15-19.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente [en línea]. Material vegetal (n.d.). [Consulta: 20 de mayo de 2016]. Disponible en:
<http://www.magrama.gob.es/app/materialVegetal/fichaMaterialVegetal.aspx?lng=es&IdFicha=2524>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) [en línea]. Producción. [Consulta: 20 de mayo de 2016]. Disponible en:
<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- Omweaga, C., Thomason, I. J. y Roberts, P. A. (1988). A nondestructive technique for screening bean germplasm for resistance to *Meloidogyne incognita*. *Plant Disease*, 72:970-972.
- Picó, M.B., Gisbert, C. (2015). Estrategias de selección de portainjertos para variedades de melón Documento Universidad Politécnica de Valencia.
- Ploeg, A.T, Phillips, P.C, (2001). Damage to melon (*Cucumis melo* L.) cv. Durango by *Meloidogyne incognita* in southern California. *Nematology* 3, 151-57.
- Sigüen Schochow, M.; Turini, T y Ploeg, A; (2005). Use of *Cucumis metuliferus* as a Rootstock for Melon to Manage *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 37(3):276–280.
- Sorribas, F.J S. Verdejo-Lucas, S. (1999). Capacidad parasitaria *Meloidogyne spp.* en cultivares de tomate resistente. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* Vol. 14 (1-2).
- Sorribas, F. J., Ornat, C., Verdejo-Lucas, S., Galeano, M., and Valero, J. (2005). Effectiveness and profitability of the Mi-resistant tomatoes to control root-knot nematodes. *Eur. J. Plant Pathol.* 111, 29–38. doi:10.1007/s10658-004-1982-x.
- Sorribas, F. J., Verdejo-Lucas, S. (2011). Dinámica de poblaciones, epidemiología y umbrales de daño. In María Fe Andrés Yeves y Soledad Verdejo Lucas (Eds) *Enfermedades causadas por nematodos fitoparásitos en España*. Sociedad Española de Fitopatología- PHYTOMA-España. Valencia, España. 97-114.



- Talavera, M., Verdejo-Lucas, S., Ornat, C., Torres, J., Vela, M. D., Macias, F. J., Sorribas FJ. (2009). Crop rotations with Mi gene resistant and susceptible tomato cultivars for management of root-knot nematodes in plastic houses. *Crop Prot.* 28, 662–667. doi:10.1016/j.cropro.2009.03.015.
- Taylor, A. L. (1967). *Introduction to Research on Plant Nematology: An FAO Guide to the Study and Control of Plant-parasitic Nematodes.*
- Thies, J. A., Levi, A. (2003). Resistance of watermelon germplasm to the peanut root-knot nematode. *HortScience* 38:1417-1421.
- Thies J. A., Levi, A. (2007). Characterization of watermelon (*Citrullus lanatus var. citroides*) germplasm for resistance to rootknot nematodes. *Hortscience* 42:1530-1533.
- Thies, J. A., Ariss, J. J., Hassell, R. L., Olson, S., Kousik, C. S., Levi, A. (2010). Grafting for management of southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in watermelon. *Plant Dis.* 94:1195-1199
- Thies,J.A; Ariss,J.J; Hassell ,R.L; Buckner,S.; Levi, A.(2015). Accessions of *Citrullus lanatus var.citroides* are Valuable Rootstocks for Grafted Watermelon in Fields Infested with Root-knot Nematodes. *Hort Science* 50(1):4-8.
- Thies, J. A., Ariss, J. J., Kousik, C. S., Hassell, R. L., Levi, A. (2016). Resistance to Southern Root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) in Wild Watermelon (*Citrullus lanatus var. citroides*). *Journal of Nematology* 48(1):14–19. 2016.
- Valdemar, C. y Barrios M.S.(2006). Las cucurbitáceas bases para su mejora genética.Horticultura internacional, p: 18-21.
- Vela, M. D., Giné, A., López-Gómez, M., Sorribas, F. J., Ornat, C., Verdejo-Lucas, S., et al. (2014). Thermal time requirements of root-knot nematodes on zucchini-squash and population dynamics with associated yield losses on spring and autumn cropping cycles. *Eur. J. Plant Pathol.* doi:10.1007/s10658-014-0482-x.
- Verdejo-Lucas, S., Sorribas, J., and Puigdomènech, P. (1994). Pérdidas de producción en lechuga y tomate causadas por *Meloidogyne javanica* en invernadero. *Investig. Agrar.* 2, 395-400.