

## Grafting of sweet pepper against to *Meloidogyne incognita* infestation: Physiological response

## Injerto de pimiento frente a la infestación de *Meloidogyne incognita*: Respuesta fisiológica

A. Gálvez<sup>\*1</sup>, A. Lacasa<sup>2</sup>, C. Ros<sup>2</sup>, F.M. del Amor<sup>1</sup>, J. López-Marín<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Hortofruticultura. IMIDA. La Alberca. Murcia. Spain

<sup>2</sup>Departamento de Biotecnología y Protección de Cultivos. IMIDA. La Alberca. Murcia. Spain

### Abstract

*Meloidogyne incognita* is one of the main pathogens of pepper. Limiting the use of chemical fumigants, it has led to the use of rootstocks with nematode resistance genes as an effective alternative to control. The reiteration of some of these cultivation of rootstocks, causes the appearance of virulent populations. The evaluation of the physiological and agronomic characteristics of plants grafted on Atlante (Me3), C19 (Me3 in different background) and Robusto (Me1) against a virulent to Me3 gene population, shows that the graft on Robust and C19 with resistance genes Me 1 and Me 3 respectively *M. incognita*, improve the physiological response and agronomic against biotic stress caused by the nematode.

**Keywords:** *Capsicum annuum*; nematodes; resistance genes.

### Resumen

*Meloidogyne incognita* es uno de los principales patógenos del pimiento. La limitación del uso de fumigantes químicos, ha conllevado al uso de porta-injertos con genes de resistencia al nematodo como eficaz alternativa a su control. La reiteración del cultivo de algunos de éstos porta-injertos, provoca la aparición de poblaciones virulentas. La evaluación sobre las características fisiológicas y agronómicas de plantas injertadas sobre Atlante (Me3), C19 (Me3 en diferente background) y Robusto (Me1) frente a una población virulenta al gen Me3, muestra que el injerto sobre Robusto y C19 con genes de resistencia Me1 y Me3 respectivamente a *M. incognita*, mejoran la respuesta fisiológica y agronómica frente al estrés biótico provocado por el nematodo.

**Palabras clave:** *Capsicum annuum*; nematodos; genes de resistencia.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los nematodos del género *Meloidogyne* son uno de los principales patógenos de los cultivos protegidos debido a los daños que provocan en sus raíces, impidiendo a la planta una correcta absorción de agua y nutrientes, y que ocasionan pérdidas de cosecha además del coste de los medios utilizados para paliar los daños. En solanáceas como el tomate, estas pérdidas

---

\* E-mail: 1297@coitarm.es

representan entre un 10 y un 15% de promedio [1], pudiéndose alcanzar entre un 30 y un 60% en suelos altamente infestados.

En los invernaderos de pimiento del Campo de Cartagena (Murcia) *Meloidogyne incognita* está ampliamente distribuido y tras la eliminación del bromuro de metilo, se ha convertido en un problema emergente en más del 40% de los invernaderos [2]. Los fumigantes químicos han sido la forma más extendida de control para mitigar sus efectos, sin embargo, las actuales limitaciones de su uso mediante regulaciones gubernamentales, han contribuido a un mayor énfasis en otras medidas de control [3].

El uso de cultivares resistentes como porta-injertos se considera como una estrategia viable para el control del nematodo [4]. En el pimiento se han identificados tres genes de resistencia frente a *M. incognita* denominados *Me1*, *Me3* y *N* [5]. El uso reiterado de porta-injertos portadores de *Me3* en un mismo suelo sin desinfectar, provoca la selección de poblaciones virulentas a este gen, evitándose esto con la combinación de la biosolarización [6].

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto provocado por los nematodos en la fisiología y en el comportamiento agronómico de plantas injertadas con genes de resistencia a *Meloidogyne incognita*.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

Se evaluaron plantas de la variedad Gacela 'F1' (Syngenta Seeds, Holanda) injertadas sobre tres porta-injertos comerciales: Atlante y C19 (Ramiro Arnedo, España) portadores del gen *Me3* introgresado en diferente background y Robusto (Syngenta Seeds, Holanda) portador del gen *Me1*. Plantas de Gacela sin injertar e injertadas sobre los mismos porta-injertos sin inocular, se usaron como control. Cada planta se cultivó individualmente en macetas de 10 l. y fue inoculada con 2400 J2 de nematodos de *M. incognita* raza [7] virulenta al gen *Me3* de resistencia [2, 8].

### 2.2 Parámetros medidos

La incidencia del nematodo se realizó mensualmente descubriendo parte de la raíz durante el cultivo y en su totalidad al final del ensayo, anotando el índice de agallas (IA) [9] y el porcentaje de plantas afectadas (% plantas afectadas).

Se analizó el intercambio de gases en hojas totalmente desarrolladas a los 205 DDT (días después del trasplante), de 9:00-11:00 am (GMT). La tasa fotosintética ( $A_{max}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\text{s}$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\text{s}$ ), transpiración ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\text{s}$ ) y  $\text{CO}_2$  intercelular ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2/\text{mol aire}$ ) se midieron en condiciones constantes de saturación de luz ( $800 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ) y 400 ppm de  $\text{CO}_2$  con un medidor de fotosíntesis portátil LI-6400 (LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska, USA). La producción comercial fue medida en cinco recolecciones.

### 2.3 Diseño del experimento y análisis estadístico

El diseño experimental fue en bloques al azar de 4 bloques por 5 repeticiones. Los resultados de incidencia del nematodo, índice y porcentaje medio de plantas afectadas, fueron transformados mediante la expresión  $y = \arcsen\sqrt{x}$  ( $x = \%$  plantas infestadas) y la expresión  $y = \text{Log}_{10}(x+1)$  ( $x =$  índice medio de agallas). Se calcularon las diferencias significativas por ANOVA y los resultados fueron comparados con una probabilidad de  $P \leq 0.05$  de acuerdo al test LSD.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El IA y el % plantas afectadas por los nematodos en C19 (*Me3*), fueron inferiores a los observados en Atlante y la variedad susceptible, entre los que no se encuentran diferencias significativas debido a la virulencia mostrada por la población al gen *Me3* introgresado en el porta-injertos Atlante (2). Robusto (*Me1*) no se vio afectado por el nematodo.

Las plantas de Gacela y Atlante (*Me3*) inoculadas con nematodos, disminuyeron la fotosíntesis en un 27% y un 25% con respecto a las plantas no inoculadas (Tabla 1). El porta-injertos C19 (*Me3* en diferente background que Atlante), no vio reducida su fotosíntesis cuando estuvo inoculado con el nematodo. Las prestaciones del gen *Me3* en diferente fondo genético, no solo se observan en la infestación por el nematodo [8] sino también en la influencia sobre la fotosíntesis. El patrón Robusto (*Me1*) presenta la misma fotosíntesis entre plantas inoculadas y no inoculadas, al no infestarse con los nematodos (Tabla 2).

Para el resto de parámetros fisiológicos medidos, la tendencia es similar a la observada en la fotosíntesis. Gacela y Atlante cuando están inoculadas con nematodos, reducen significativamente sus valores de conductancia estomática (39% y 32% respectivamente), transpiración (20%), y concentración de CO<sub>2</sub> intercelular (7 y 35% respectivamente) frente a las plantas sin inocular (Tabla 2) y no encontrándose diferencias entre plantas inoculadas y no inoculadas en C19 y Robusto (Tabla 2). El injerto sobre determinados porta-injertos, mejora la variedad injertada frente al estrés provocado por el nematodo, al igual que ocurre frente a estreses abióticos, como la salinidad [10] y la temperatura y radiación solar [11].

En cuanto a la producción, se encontraron diferencias significativas entre plantas inoculadas y no inoculadas para Gacela y Atlante, siendo Gacela la que presenta una mayor reducción de la producción (Tabla 2). Robusto y C19 apenas vieron reducida su producción cuando estuvieron inoculados nematodos (Tabla 2).

### 4. CONCLUSIONES

La virulencia presentada por el aislado de *M. incognita* usado en el ensayo, pone de manifiesto que el injerto de las plantas susceptibles de Gacela sobre el patrón Atlante (*Me3*) se comportan al mismo nivel que las plantas de la variedad comercial sin injertar, no mejorando este porta-injertos la respuesta fisiológica y agronómica frente al estrés biótico provocado por los nematodos. El porta-injerto C19 portador del mismo gen que Atlante, mostró un buen comportamiento frente al aislado virulento y no se vieron afectados ni la producción ni los parámetros fisiológicos medidos, esto podría ser debido al fondo genético donde esta introgresado este gen. El injerto sobre el porta-injertos Robusto con gen de resistencia *Me1* a *M. incognita*, mejora la respuesta fisiológica y agronómica frente al estrés biótico provocado por el nematodo. Este ensayo se ha realizado para el caso, de que la presión de selección provocada por la reiteración del cultivo de porta-injertos resistentes a *Meloidogyne* con el gen *Me3*, produzca la aparición de poblaciones virulentas a este gen.

### 5. AGRADECIMIENTOS

Al proyecto de investigación FEDER PO 07-41, que está cofinanciado en un 80% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

## 6. REFERENCIAS

- [1] Bello, A. P., Escuer, M., Pastrana, M.A. (1996). Nematodos fitoparásitos y su control en ambientes mediterráneos. En: Patología vegetal Tomo II, eds. (Llácer, G., López, M.M., Trapero, A y Bello, A., Sociedad Española de Fitopatología), p.1039-1069.
- [2] Ros, C., Robertson, L., Martínez, M.C., Lacasa, A. (2014). Development of virulence to *Meloidogyne incognita* on resistant pepper rootstocks. Spanish J. Agric. Res. 12(1), 225-232.
- [3] Ornat, C., Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J. (2001). A population of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the Mi resistance gene in tomato. Plant Dis. 85(3), 271-276.
- [4] Djian-Caporalino, C., Molinari, S., Palloix, A., Ciancio, A., Fazari, A., Marteu, N., Ris, N., Castagnone-Sereno, P. (2011). The reproductive potential of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* is affected by selection for virulence against major resistance genes from tomato and pepper. Eur. J. Plant Pathol. 131, 431-440.
- [5] Fazari, A., Palloix, A., Wang L.H., Hua M. Y., Sage-Palloix, A. M., Zhang B., X., Djian-Caporalino, C. (2012). The root-knot nematode resistance Ngene co-localizes in the Me-genes cluster on the pepper (*Capsicum annuum* L.) P9 chromosome. Plant Breed 131, 665-673.
- [6] Ros, C., Martínez, C., Sánchez, F., Lacasa, C.M., Guerrero, M.M., Lacasa, A. (2011). Biosolarización and grafting as a way mitigate the selection of virulent populations of *Meloidogyne incognita* in pepper. ISBN 978-92-9067-248-7 Bulletin OIBC/swrp 71: 113-116.
- [7] Robertson, L., López-Pérez, J.A., Bello, A., Díez-Rojo, M.A., Escuer, M., Piedra-Buena, A., Ros, C., Martínez, C. (2006). Characterization of *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. hapla* populations from Spain and Uruguay parasitizing pepper (*Capsicum annuum*). Crop Prot. 25, 440-445.
- [8] Sánchez-Solana, F. (2015). Influencia del fondo genético en la expresión de la resistencia a *Meloidogyne incognita* en pimiento (*Capsicum annuum* L.). Tesis doctoral UPCT.
- [9] Bridge, J.S., Page, L.J. (1980). Estimation of root-knot nematodes infestation levels on roots using a rating chart. Trop Pest Manage 26: 296-298.
- [10] Penella, C., Nebauer SG, López-Galarza S, San Bautista A, Gorbe E. 2013. Evaluation for salt stress tolerance of pepper genotypes to be used as rootstocks, J. Food Agric. Environ. 11 1101-1107.
- [11] López-Marín, J., González, A., Pérez-Alfocea, F., Egea-Gilabert, C., Fernández, J.A. (2012) Grafting is an efficient alternative to shading screens to alleviate thermal stress in greenhouse-grown sweet pepper. Sci. Horti-Amsterdam, 149,39-46.

**Tabla 1.** Porcentaje de plantas afectadas e índice de agallas en plantas inoculadas.

Parámetros	Gacela	Atlante	Robusto	C19
% Plantas afectadas <sup>a</sup>	100'0C	100'0C	0'0A	50'0B
Índice de agallas <sup>b</sup>	5'3C	5'2C	0'0A	0'6B

<sup>a</sup> Test LSD al 95% con datos transformados mediante  $\text{Arcsen}(\sqrt{x})$ . <sup>b</sup> Test LSD al 95% con datos transformados mediante  $\text{Log}_{10}(x)$ .

**Tabla 2.** Parámetros fotosintéticos y producción con cada combinación de porta-injertos y control en plantas inoculadas (N) y no inoculadas (SN).

Parámetros	T	Gacela	Atlante	Robusto	C19
A ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	N	15'66Aa	16'55Aa	21'40Ba	21'69Ba
	SN	21'44 Ab	21'98Ab	22'33Aa	22'04Aa
gs ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	N	0'28Aa	0'32Aa	0'50Ba	0'57Ba
	SN	0,48Ab	0'47Ab	0'58Ba	0'58Ba
Ci ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ )	N	238'73Aa	246'05Aa	263'81Ba	262'26Ba
	SN	256'94Ab	254'12Ab	268'37Ba	264'56Ba
E ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	N	6'31Aa	7'29Aa	10'50Ba	11'03Ba
	SN	7'89Ab	9'11Ab	11'30Ba	11'36Ba
Producción (Kg/planta)	N	6'31Aa	7'29Aa	10'50Ba	11'03Ba
	SN	7'89Ab	9'11Ab	11'30Ba	11'36Ba

Letras diferentes indican diferencias significativas, las minúsculas entre patrones y las mayúsculas entre tratamientos (Test LSD,  $P < 0,05$ ).