



Introducción

- En la agricultura del siglo XXI es esencial el equilibrio entre el respeto al medio ambiente y la productividad. En la lucha frente a patógenos el empleo de productos químicos es más restrictivo y se buscan soluciones alternativas. Uno de los métodos utilizados consiste en el empleo de variedades tolerantes a patógenos. Entre los parásitos más resistentes, los nematodos (*Meloidogyne incognita*) producen graves daños en los cultivos que causan pérdida de producción y lleva asociado un elevado coste en tratamientos.
- El cultivo de pimiento de invernadero es principal en la Región de Murcia, con 1300 ha en el campo de Cartagena, *Meloidogyne incognita* merma su producción.
- Se han descrito genes implicados en comportamientos de tolerancia (Me1, Me3 y Me7) para *Capsicum annuum* (Caporalino et al., 2007) y desarrollado marcadores moleculares para su identificación.



Hipótesis y objetivos

Hipótesis

- Los marcadores moleculares SCAR B94 y CD y el marcador CAPS F4R4 (Dijan-Caporalino, 2007) pueden identificar los alelos tolerantes a *Meloidogyne incognita* presentes en variedades de pimiento cultivadas en la comarca del Campo de Cartagena.

Objetivos

- Evaluar el comportamiento de ocho patrones de pimiento y variedades referencia frente a poblaciones de nematodos *Meloidogyne incognita* en condiciones de campo y laboratorio.
- Poner a punto el análisis con marcadores moleculares que identifican los alelos tolerantes a nematodos presentes en pimiento, con un set de 2 marcadores moleculares SCAR y 1 de tipo CAPS (Caporalino et al., 2007).



Materiales

- Analizamos 8 portainjertos de pimiento y cinco variedades referencia (Fig. 1) y tres marcadores moleculares desarrollados por Dijan-Caporalino et al, 2007. Como continuidad del proyecto se iniciaron los trabajos de puesta a punto de otro set de 7 marcadores SCAR recogidos en la bibliografía Farazi et al, 2011 (Fig.2)

Portainjertos de pimiento			
Denominación	Denominación	Denominación	Denominación
CM 334 (CM)	Variedad portadora Me7	IMIDA 2 (I2)	Patrón experimental
PI 322719 (PI32)	Variedad portadora Me3	Atlante (C25)	Patrón comercial
PI 201234 (PI20)	Variedad portadora Me1	DRO 8801 (DRO)	Patrón comercial
Nemahard (N)	Patrón experimental	C19	Patrón comercial
Sonar (S)	Variedad sensible	Snooker (SK)	Patrón comercial
Yolo W (YW)	Variedad sensible	RT12 (RT)	Patrón comercial
IMIDA 1 (I1)	Patrón experimental		

Fig. 1

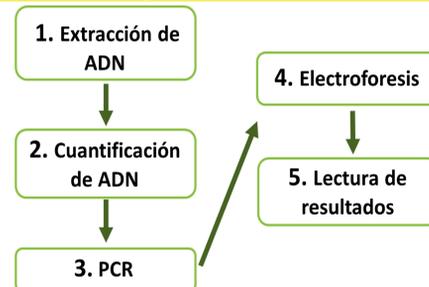
Marcadores y características							
Marcador	Gen	Tª anillamiento (°C)	Referencia	Marcador	Gen	Tª anillamiento (°C)	Referencia
B94	Me3	57	Dijan-Caporalino et al., 2007	PM5	Me1	54	Fazari et al., 2012
CD	Me1 y Me7	63		PmM6a	Me3 y Me7	49	
F4R4	Me7	51		PM6b	Me3 y Me7	61	
				N	Me3	54	
			HM6	Me1	57		
			PM54	Me1 y Me7	54		
			HM60	Me1	54		

Fig. 2



Metodología

- Extracción de muestras de ADN con nitrógeno líquido.
- Cuantificación del ADN, mediante dos métodos:
 - Espectrómetro Nanodrop 2000c, con el programa ND8000C2.3.2.
 - Electroforesis sobre gel de agarosa
- PCR
- Electroforesis en gel de agarosa
- Lectura de resultados



6. Observación visual de daños producidos por la infección en campo y laboratorio



Resultados y conclusiones

Muestra	SCAR B94	SCAR CD	CAPS F4R4	Genes
CM 334 (CM)	S	R	R	Me7 (bibliografía)
PI 322719 (PI32)	S	--	--	--
PI 201234 (PI20)	S	R	S	Me1 (bibliografía)
Nemahard (N)	S	S	R	Me7
Sonar (S)	S	S	S	no alelos tolerancia
Yolo W (YW)	S	S	S	no alelos tolerancia
IMIDA 1 (I1)	S	S	S	no alelos tolerancia
IMIDA 2 (I2)	S	R	R	Me7 y ¿Me1?
Atlante (C25)	S	S	R	Me7
DRO 8801 (DRO)	S	R	R	Me 7 y ¿Me1?
C19	S	S	R	Me 7
Snooker (SK)	S	R	R	Me 7 y ¿Me1?
RT12 (RT)	S	R	S	Me1

- En el análisis molecular con los tres marcadores descritos por Dijan-Caporalino et al. (2007) se obtuvieron los siguientes resultados:
 - Dos patrones (IMIDA y Sonar) y la variedad de referencia (Yolo Wonder) sensibles, sin ningún gen de resistencia
 - Los patrones Nemahard, Atlante y C19 fueron portadores del gen Me7
 - Los patrones IMIDA2, Snooker y DRO8801, posiblemente sean portadores de los genes Me7 y Me1 quedando este último por confirmar con el nuevo set de marcadores
 - El patrón RT12 portaría el gen Me1
 - Se confirmó que los patrones de referencia PI 201334 y CM 334 eran portadores de los genes Me1 y Me7 respectivamente
- En estudio de interacción entre molecular e inoculación apreciamos:
 - El gen Me1 conferiría el mayor nivel de resistencia, pero deben estar implicados otros genes menores que le darían mayor robustez y estabilidad
 - Los patrones que se cree pueden llevar los genes Me7 y el Me1 también tuvieron un buen comportamiento frente a la infección
 - Los cultivares de referencia PI 201234 (Me1) y el CM 334 (Me3) no tuvieron un buen comportamiento frente a la infección



Patrones PI 201234 (Me1), PI 322719 (Me3) y CM 334 (Me7) infestados con nódulos de *M.incognita* virulenta

Patrones Atlante, Nemahard infestados con nódulos de *M.incognita* virulenta y el patrón RT12 sin nódulos



Propuesta de continuidad

- Los marcadores moleculares ligados a genes de resistencia a nematodos en *Capsicum annuum* son una técnica efectiva y complementaria a la detección visual de síntomas. Nos permite identificar y caracterizar el material vegetal portador de dichos genes de tolerancia y seleccionarlo para programas de mejora.



Con la colaboración de