

# EFICACIA Y DURABILIDAD DEL GEN *Mi* DE RESISTENCIA EN TOMATE PARA EL MANEJO DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* EN INVERNADERO

F.J. SORRIBAS  
C. ORNAT

Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia. Escola Superior  
d'Agricultura de Barcelona, Campus del Baix Llobregat-UPC,  
Av. Canal Olímpic, s/n, 08860 Castelldefels, Barcelona

S. VERDEJO-LUCAS  
M. GALEANO

Departament de Protecció Vegetal. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentària

J. VALERO

Departament de Matemàtica Aplicada III. Escola Superior d'Agricultura  
de Barcelona

## RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio para determinar la relación coste-eficacia del gen *Mi* de resistencia en tomate para el control de *Meloidogyne javanica* en invernadero como alternativa al uso de nematicidas y evaluar la posible selección de poblaciones virulentas. Los cultivares de tomate Monika (resistente) y Durinta (susceptible) se cultivaron de marzo a julio, durante tres años consecutivos, en suelo desinfectado con bromuro de metilo (75 g/m<sup>2</sup> y coste 2,44 euros/m<sup>2</sup>) y sin desinfectar en un invernadero infestado por *M. javanica*. Las parcelas eran de 9,2 m<sup>2</sup> y la densidad de plantación fue de 2,9 plantas/m<sup>2</sup>. El diseño experimental fue al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. La densidad de nematodos se determinó al inicio (Pi) y al final (Pf) de cada cultivo. La producción se determinó cosechando los tomates de 8 plantas por repetición semanalmente durante seis semanas. El precio del tomate se estimó según los precios del mercado central de Barcelona durante el periodo de cosecha. La población inicial del nematodo fue de 480 y 660 J2/250 cm<sup>3</sup> de suelo en las parcelas plantadas con tomate susceptible y resistente, respectivamente. La densidad al final del cultivo fue de 10.356 y 190 J2/250 cm<sup>3</sup> de suelo después de tres años de cultivar tomate susceptible y resistente, respectivamente. El beneficio medio de cultivar tomate resistente en parcelas infestadas fue de 30.000 euros/ha y año respecto el cultivo de tomate susceptible y de 10.600 euros/ha respecto el

cultivo de tomate resistente en parcelas desinfectadas con bromuro de metilo. La pérdida media de cultivar tomate susceptible en parcelas infestadas respecto las desinfectadas con bromuro de metilo fue de 21.000 euros/ha y año. Al final del experimento no se detectó selección de virulencia, aunque la población del nematodo presente en las parcelas cultivadas con tomate resistente durante tres años consecutivos produjo cuatro veces más huevos en el cultivar resistente que la población presente en las parcelas cultivadas con tomate susceptible. Esta diferencia se mostró igualmente al someter el cultivar resistente a una presión constante de inóculo durante 14 semanas. La relación coste-eficacia del gen *Mi* de resistencia en tomate para el control de *Meloidogyne* es mejor que la del bromuro de metilo. Sin embargo, se debe considerar su utilización combinada con otros métodos en el marco del manejo integrado para preservar su durabilidad en las condiciones ambientales del área de producción.

## INTRODUCCIÓN

El creciente interés en temas medioambientales y las regulaciones gubernamentales han promovido el uso de métodos no químicos para el control de plagas y enfermedades de las plantas. La resistencia vegetal es el método de control más importante que permite suprimir o retardar la invasión por patógenos (Holliday, 1989). En Nematología, la resistencia se define como la capacidad de una planta para reducir el desarrollo y/o la reproducción de nematodos fitoparásitos (Roberts, 2002). En tomate, la resistencia a *Meloidogyne* es conferida por el gen *Mi*, el cual fue introducido en *Lycopersicon esculentum* a partir de *L. peruvianum* (Smith, 1944) y se halla presente en todos los cultivos de tomate comerciales resistentes a *Meloidogyne*. El gen *Mi* confiere resistencia pero no inmunidad a *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria* (Roberts y Thomason, 1989). De las tres especies del nematodo, *M. javanica* es la especie más común en la región mediterránea (Philis, 1983; Sorribas and Verdejo-Lucas, 1994; Eddaoudi *et al.*, 1997; Tzortzakakis and Gowen, 1996; Ornat and Verdejo-Lucas, 1999; Verdejo-Lucas *et al.*, 2002). Los tomates portadores del gen de resistencia *Mi* suprimen el desarrollo y/o reproducción de *Meloidogyne* y pueden ser cultivados en suelos infestados por el nematodo sin que se produzcan pérdidas de producción significativas (Philis y Vakis, 1977; Ornat *et al.*, 1997; Rich y Olson, 1999). No obstante, el cultivo de plantas resistentes pueden cambiar la composición de comunidades poliespecíficas de nematodos o seleccionar variantes infraespecíficas en las poblaciones (Roberts, 2002), por lo que es necesario determinar la efectividad de la resistencia a largo plazo para estimar la durabilidad de la misma en el agroecosistema en cuestión. La virulencia, definida como la habilidad del nematodo para reproducirse en una planta huésped que dispone de uno o más genes de resistencia, puede presentarse de forma natural sin previa exposición de la población al gen *Mi* (Netscher, 1976; Prot, 1984; Ornat *et al.*, 2001), o bien puede ser seleccionada a consecuencia de la reiterada exposición de la población al gen de resistencia (Castagnone-Sereno *et al.*, 1993; Netscher, 1976; Roberts, 1995). Así, la durabilidad de la resistencia dependerá de la frecuencia de nematodos virulentos presentes en la población de campo. La evaluación de la durabilidad puede realizarse mediante el cultivo de tomate resistente a largo plazo, así como sometiendo a los cultivares resistentes a una alta y constante presión de inóculo (Esmenjaud, *et al.*, 1992; 1996). Además, existen otros factores que afectan la expresión de la resistencia como son la temperatura (Dropkin, 1969) y la composición alélica del gen, es decir, si el gen se halla en heterocigosis u homocigosis (Tzortzakakis *et al.*, 1998).

El objetivo del estudio fue determinar la relación coste-eficacia del gen *Mi* de resistencia en tomate para el control de *Meloidogyne javanica* en invernadero durante tres años consecutivos como alternativa al uso de nematicidas, y evaluar la durabilidad de la resistencia después de tres cultivos consecutivos y bajo presión continua de inóculo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*Experimento de invernadero.* El estudio se llevó a cabo en un invernadero de plástico situado en Cabrils, Barcelona. La ventilación era lateral y cenital, y sin calefacción. El suelo era de textura franco arenosa con 85,8% arena, 8,1% limo y 6,1% arcilla, el pH era de 8,1, la conductividad eléctrica de 0,40dS m<sup>-1</sup> y 0,9% de materia orgánica (p:p). La parcela elemental era 3,4 m × 1,5 m y consistía en dos filas con seis tomatas en cada una de ellas. La distancia entre filas era de 55 cm y entre plantas de la misma fila era de 50 cm. Los tratamientos ensayados fueron: i) tomate con gen *Mi* en suelo no desinfestado, ii) tomate con gen *Mi* en suelo desinfestado con bromuro de metilo (98% bromuro de metilo + 2% cloropicrina), iii) tomate sin gen *Mi* en suelo no desinfestado, iv) tomate sin gen *Mi* en suelo desinfestado con bromuro de metilo. Cada tratamiento se repitió 4 veces. El diseño experimental fue de bloques estratificados al azar. El fumigante se aplicó, bajo plástico y en caliente, a razón de 75 g/m<sup>2</sup> en octubre de 1998. La cubierta plástica se levantó cuatro días después de la fumigación y se preparó el suelo para plantar. La temperatura del suelo a 15 cm de profundidad durante la fumigación fue de 21 °C. No se realizó ninguna fumigación posterior durante los tres años de duración del estudio. Tomateras de un mes de edad de los cultivares resistentes (con gen *Mi*) Monika y susceptible (sin gen *Mi*) Durinta fueron cultivadas en las parcelas desinfestadas y no desinfestadas desde marzo a julio de 1999, 2000 y 2001. La lechuga, *Lactuca sativa* tipo Maravilla cv. Arena, sucedía al tomate desde octubre a febrero, y el nematodo no se reprodujo en ella (Verdejo-Lucas *et al.*, 2003).

*Densidades de M. javanica y severidad de la enfermedad.* Las densidades de población del nematodo se evaluaron al inicio y al final de cada cultivo para estimar la población inicial (Pi) y población final (Pf) del mismo, respectivamente. Se tomaron muestras individuales compuestas de cinco submuestras de los primeros 30 cm del suelo de cada parcela con una sonda de 2,5 cm de diámetro. El suelo se homogeneizaba y se extraían los nematodos a partir de 500 cm<sup>3</sup> de suelo mediante el método de las bandejas de Baermann (Whitehead y Hemming, 1965). Al cabo de una semana, los juveniles (J2) que habían migrado al agua eran recogidos en un tamiz de 25 µm de luz de poro, contados al microscopio y expresados como J2 en 250 cm<sup>3</sup> de suelo. La severidad de la enfermedad se evaluó mediante el índice de agallas que presentaban las raíces al final del cultivo según una escala del 0 al 10, donde 0 = raíces sanas sin agallas y 10 = plantas y raíces muertas (Zeck, 1971). La severidad se evaluó a partir de las ocho plantas centrales de cada parcela. A continuación, las raíces se lavaban y se troceaban en fragmentos de 5 cm de longitud y se procedía a la extracción de huevos a partir de muestras de 10 g mediante la maceración de las mismas en una solución de 0,5% de NaCl durante 10 minutos (Hussey y Barker, 1973). El número de huevos se expresa por gramo de raíz fresca.

*Producción.* Los tomates producidos por las ocho plantas centrales de cada parcela fueron cosechados una vez por semana durante 6 semanas y el peso acumulado se expresa como kg/m<sup>2</sup>. El valor de la cosecha se calculó para cada año según la media del precio pagado a los agricultores en el mercado central de Barcelona durante el período de cosecha. El precio de 1 kg de tomates fue 0,47, 0,70 y 0,71 euros el primer, segundo

y tercer año, respectivamente. Para determinar la relación coste-eficacia de usar tomate resistente *versus* fumigación, se realizó una estimación económica usando el umbral de beneficio (UB) descrito por Pedigo (1989), el cual relaciona el coste de control con el daño económico según la fórmula  $UB = \text{coste de control (euros/m}^2) / \text{Valor de la cosecha (euros/kg)}$ . El coste de control mediante la fumigación con bromuro de metilo fue de 2,44 euros/m<sup>2</sup>, el cual incluye el fumigante, la aplicación y las labores. Este valor fue distribuido proporcionalmente entre los tres cultivos (0,81 euros/m<sup>2</sup> cultivo<sup>-1</sup>), ya que la fumigación mantuvo las densidades del nematodo por debajo de los niveles de detección durante el período de estudio. El coste de controlar el nematodo mediante la resistencia fue nulo, ya que el precio de los cultivares resistente y susceptible fue el mismo. El resto de prácticas agronómicas fue similar en todos los tratamientos y no se incluyeron en la estimación.

*Manejo del cultivo.* La preparación del suelo se realizó a mano para evitar la contaminación entre tratamientos. El riego de las parcelas era localizado y eran fertilizadas semanalmente con una solución NPK (15-5-30), quelato de hierro y micronutrientes a dosis de 31 y 0,9 kg/ha, respectivamente. Al final del cultivo, se cortaban las plantas y se extraían del invernadero para evitar el desarrollo del nematodo. Las malas hierbas se eliminaban manualmente durante y entre cultivos. La temperatura del suelo se registraba a intervalos de 30 minutos mediante sondas ubicadas a 15 cm de profundidad.

*Estimación de la virulencia.* Se realizaron dos experimentos para comparar el índice de reproducción [(Pf en cultivar resistente / Pf en cultivar susceptible) × 100] de las poblaciones de *M. javanica* procedentes de parcelas cultivadas con el cultivar resistente (población RT3) o susceptible (población ST3) durante tres campañas consecutivas. En el experimento 1, los cultivares Bond (resistente) y Palosanto (susceptible) fueron trasplantados individualmente a macetas de 1 l de capacidad que contenían arena esterilizada mediante vapor de agua, e inoculadas con 3.000 huevos por planta. El inóculo se obtuvo a partir de las raíces de tomate resistente (RT3) o susceptible (ST3) del tercer año, mediante la maceración del sistema radicular en una solución de NaCl al 0,5% durante 5 minutos (Hussey y Barker, 1973). Alícuotas de la suspensión de huevos fueron pipeteadas en dos agujeros practicados en la arena a unos 2 cm del tallo de la tomatera. Cada combinación población-cultivar se repitió ocho veces, y las macetas se dispusieron al azar en una banqueta en invernadero. La temperatura del suelo durante el ensayo fue inferior a 27 °C. Las plantas fueron regadas diariamente y fertilizadas con abono de liberación lenta 815N + 10P + 12K + 2MgO + microelementos). La reproducción del nematodo se determinó al cabo de ocho semanas desde la inoculación. Los huevos fueron extraídos de la raíz mediante la maceración del sistema radicular en una solución de NaCl al 0,5% durante 10 minutos (Hussey y Barker, 1973). El índice de reproducción de cada población de *M. javanica* fue calculado.

En el experimento 2, los nematodos utilizados como inóculo se obtuvieron el 2003, después de un año de barbecho, a partir de suelo de las parcelas que habían sido cultivadas con tomate resistente (RT3) o susceptible (ST3) desde 1999 a 2001. El suelo infestado de cada tratamiento se mezcló con arena esterilizada con vapor de agua (1:1 v:v) y dispuesta en macetas de 1 l de capacidad. La densidad de población en la maceta fue determinada mediante el método de las bandejas de Baermann. La densidad inicial de juveniles RT3 y ST3 era de 580 y 830 en 250 cm<sup>3</sup> de suelo, respectivamente. Los tomates Monika (resistente) y Durinta (susceptible) fueron individualmente trasplantados en las macetas. Cada combinación población-cultivar se repitió 12 veces y las macetas se dispusieron al azar en una banqueta en invernadero y mantenidas como se ha descrito pre-

viamente. El número de huevos por planta se determinó al cabo de 10 semanas desde el trasplante y se calculó el índice de reproducción.

*Durabilidad de la resistencia.* El experimento se llevó a cabo el año 2003, en las mismas parcelas utilizadas para el estudio de invernadero después de 1 año de barbecho. Los cultivares Monika (resistente) y Durinta (susceptible) fueron trasplantados alternativamente en las parcelas infestadas por las poblaciones RT3 y ST3. En cada parcela se plantaron 6 tomatas de cada cultivar a una distancia de 25 cm entre ellas siguiendo la secuencia RSRRSRSRSRS. Cada tomatas resistente fue trasplantada frente a una susceptible en la fila opuesta y viceversa. La toma de muestras para determinar las densidades de población al inicio y final del experimento se realizó según el protocolo descrito en el ensayo de invernadero. Al cabo de ocho semanas después del trasplante se cosecharon 6 plantas alternas de cada cultivar para determinar la reproducción del nematodo después de una generación. Las plantas restantes se cosecharon seis semanas después permitiendo completar la segunda generación. Durante este período, las tomatas resistentes estuvieron sometidas a una presión continua de inóculo procedente de las vecinas susceptibles (Esmenjaud *et al.*, 1992, 1996). En cada cosecha se determinaron el índice de agallas y el número de huevos por gramo de raíz siguiendo los procedimientos descritos anteriormente.

*Análisis estadístico.* Los datos de densidades de población del nematodo, tasa de multiplicación (Pf/Pi) y número de huevos por gramo de raíz fueron transformados a  $\log(x+1)$  previamente al análisis de varianza. La producción de tomate y el índice de agallas fueron analizados sin transformar. La separación de medias se realizó mediante la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD) cuando el test *F* era significativo. Asimismo se determinó la relación entre la población del nematodo al inicio del cultivo (Pi) y la tasa de multiplicación (Pf/Pi) durante el cultivo de tomate susceptible mediante regresión. En los ensayos de virulencia y durabilidad, los datos de reproducción del nematodo fueron transformados a  $\log(x+1)$  previo análisis, y la separación de medias se realizó con el método de comparación múltiple de Tukey-Kramer. Los datos de índice de reproducción fueron transformados a arcoseno y la comparación de medias se realizó mediante la prueba *t* de Student.

## RESULTADOS

La temperatura del suelo desde marzo a julio de 1999, 2000 y 2001 no superó los 28 °C. En las parcelas desinfestadas con bromuro de metilo el nematodo no fue detectado durante todo el período de estudio, independientemente de que se plantase tomate susceptible o resistente. En las parcelas no fumigadas plantadas con tomate resistente y susceptible, las densidades de población antes del plantar el primer cultivo eran de 660 y 480 J2 en 250 cm<sup>3</sup> de suelo, respectivamente, y 190 y 10350 J2 en 250 cm<sup>3</sup> de suelo, respectivamente, después de los tres cultivos consecutivos de tomate. La tasa de multiplicación de la población después de tres cultivos consecutivos de tomate resistente y susceptible fue de 0,29 y 21,6, respectivamente, en las parcelas no fumigadas.

En el cultivar resistente Monika, las poblaciones inicial y final, así como el índice de agallas, decreció significativamente a partir del segundo cultivo (tabla 1). La densidad de población al final del cultivo fue un 71% inferior a la población al inicio del estudio. El porcentaje de plantas resistentes con agallas fue del 75%, 9% y 22% después de un, dos y tres cultivos, respectivamente, y la mayoría de ellas presentaban índice 1 (pocas agallas, pequeñas y sólo detectables con observación atenta). La producción de huevos

en el tercer cultivo fue 53 veces superior a la del segundo cultivo aunque fueron similares estadísticamente (tabla 1).

En el cultivar susceptible Durinta, la tasa de multiplicación de la población ( $Pf/Pi$ ) fue 62, 43 y 20 después del primer, segundo y tercer cultivo, respectivamente, y hubo una alta correlación negativa entre la densidad del nematodo al inicio del cultivo ( $Pi$ ) y la tasa de multiplicación de la población ( $Pf/Pi$ ) ( $y = -0,76x + 3,59$ ;  $R^2 = 0,7324$ ;  $P = 0,0004$ ). Todas las plantas de Durinta mostraron un alto índice de agallas.

La producción de tomate susceptible Durinta en las parcelas desinfestadas fue mayor a la producción en las parcelas no desinfestadas durante los tres cultivos, mientras que la producción del cultivar resistente Monika fue similar, independientemente del tratamiento del suelo, excepto el primer año en que la producción en las parcelas no desinfestadas fue 1,8 kg/m<sup>2</sup> menor (tabla 2). Considerando la media de los tres años, la producción del cultivar resistente en parcelas desinfestadas y no desinfestadas fue similar, como también lo fue en las parcelas desinfestadas la producción del cultivar resistente y susceptible (tabla 2). El cultivar resistente produjo un 56% más que el susceptible en las parcelas no desinfestadas (tabla 2) lo cual supuso un beneficio económico de 30.000 euros/ha (figura 1). La producción del cultivar resistente en las parcelas sin desinfestar fue similar a la del cultivar susceptible en las parcelas desinfestadas, aunque el cultivo de tomate resistente supuso un beneficio de 8.800 euros/ha debido al coste del tratamiento. En las parcelas no desinfestadas, el cultivo del tomate resistente Monika comportó un beneficio de 10.600 euros/ha respecto al cultivo de Monika en parcelas desinfestadas. En las parcelas desinfestadas con bromuro de metilo, el cultivo del tomate susceptible Durinta supuso un beneficio de 21.200 euros/ha comparado con la producción en suelo no desinfestado.

*Estimación de la virulencia.* El índice de reproducción de las poblaciones RT3 y ST3 de *M. javanica* fue similar en ambos experimentos (figura 2A). El número de huevos producido por las poblaciones RT3 y ST3 en el cultivar resistente fue inferior que el producido en el cultivar susceptible. En el experimento 1, la población RT3 produjo 4,3 veces menos huevos que la población ST3 en el cultivar susceptible. En el experimento 2, la población RT3 produjo 4,3 veces más huevos que la población ST3 en el cultivar resistente.

*Durabilidad de la resistencia.* El índice de agallas y la producción de huevos en el cultivar resistente Monika fue inferior al del cultivar susceptible Durinta a las 8 y 14 semanas del ensayo, independientemente de la población. Las diferencias entre poblaciones sólo se apreciaron al cabo de 14 semanas de cultivo, cuando el cultivar resistente se hallaba sometido a una alta y continua presión de inóculo. La población RT3 causó un mayor índice de agallas y produjo más huevos en el cultivar resistente Monika que la población ST3. Sin embargo, el índice de reproducción de ambas poblaciones fue similar ( $P > 0,05$ ) (figura 2B).

## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran que el cultivo de tomate portador del gen *Mi* de resistencia a *Meloidogyne* en invernaderos infestados con densidades de población que causan daño económico puede constituir una alternativa técnica y económicamente viable a los fumigantes. No obstante, el uso eficiente de estos cultivares debe realizarse a partir del conocimiento de la respuesta de los mismos a las poblaciones locales del área de producción para determinar la existencia y la frecuencia de poblaciones viru-

lentas (Roberts y Thomason, 1989). En estudios previos hemos constatado que la resistencia en tomate es elevada frente a poblaciones de *M. incognita* y *M. arenaria*, pero son menos resistentes frente a *M. javanica* (Busquets *et al.*, 1994; Sorribas y Verdejo-Lucas, 1999; Ornat *et al.*, 2001). De las más de 30 poblaciones examinadas, tan sólo hemos detectado la presencia de una población virulenta de *M. javanica* sin exposición previa al gen *Mi* de resistencia (Ornat *et al.*, 2001). En el presente estudio el porcentaje de plantas con agallas incrementó del 9% en el segundo cultivo al 22% en el tercer cultivo de tomate resistente, y además se apreció un incremento en el número de huevos por gramo de raíz, lo cual sugiere que se podría estar seleccionando una población virulenta a partir de la población de campo. Sin embargo, los ensayos de laboratorio han mostrado que la población RT3 de *M. javanica*, expuesta al gen *Mi* durante tres años consecutivos, continuaba siendo avirulenta ya que la producción de huevos era baja y los índices de reproducción fueron consistentes respecto los obtenidos en cultivares resistentes. Estudios previos utilizando cultivos monoxénicos de raíces mostraron la avirulencia de esta población de *M. javanica* (Ornat *et al.*, 2001). El cultivo reiterado de tomate resistente en la misma parcela puede comportar el incremento en la producción de huevos por el nematodo como se apreció en los ensayos de evaluación de la virulencia y durabilidad de la resistencia. La alta presión de inóculo ejercida por las tomateras susceptibles alternadas con las resistentes resultó en un incremento de la producción de huevos y del índice de reproducción en las parcelas con historial de tomate resistente, pero no en las que lo tenían de tomate susceptible. Este incremento en la producción de huevos podría ser el primer paso para seleccionar poblaciones virulentas, aunque parece ser que esta selección es reversible, ya que el incremento en la producción de huevos pasó de 4,2 a 1 vez después de un año de barbecho. En campo, la frecuencia de poblaciones virulentas sigue siendo baja y menos común que la virulencia a genes específicos de resistencia como en patata frente a *Globodera rostochiensis* y *G. pallida* o en soja frente *Heterodera glycines* (Starr *et al.*, 2002).

La habilidad del nematodo para reproducirse en tomateras con el gen *Mi* puede desarrollarse de forma gradual o rápida (Williamson, 1988). En condiciones de campo parecen necesarios largos periodos de exposición al gen *Mi* para que se detecten poblaciones virulentas. Así, en Marruecos, se observó que poblaciones de *M. javanica* procedentes de campos con historial de tomate resistente durante 3 a 8 años eran virulentas independientemente de si el gen se hallaba en homocigosis o heterocigosis, mientras que poblaciones expuestas al gen *Mi* una vez cada 2 o 3 años sólo eran capaces de romper la resistencia en heterocigosis (Eddaoudi *et al.*, 1997). En el norte de Florida, tres cultivos consecutivos de tomate resistente cv. Sanibel no disminuyeron la eficacia del gen *Mi* frente *M. javanica* (Rich y Olson, 1999), pero en el centro de Florida se desarrolló una población virulenta de *M. incognita* después de 5 cultivos consecutivos del tomate resistente cv. Sanibel (Noling, 2000). Es obvio que la capacidad reproductiva de las poblaciones del nematodo, así como la respuesta de los cultivares de tomate portadores del gen *Mi* frente al nematodo varía (Roberts y Thomason, 1989; Sorribas y Verdejo-Lucas, 1994; Tzortzakakis y Gowen, 1996; Eddaoudi *et al.*, 1997; Tzortzakakis *et al.*, 1998), y que, en condiciones controladas, sólo algunas poblaciones del nematodo consiguen ser virulentas (Jarquin-Barberena *et al.*, 1991), por lo que es necesario caracterizar la capacidad reproductiva de las poblaciones locales frente a los cultivares que se pretenden utilizar para conseguir resultados óptimos. Otro factor importante que afecta la expresión del gen *Mi* es la temperatura del suelo, la cual disminuye cuando ésta es superior a 28 °C (Dropkin, 1969), por lo que se debe evitar plantar durante la época más calurosa,

y mantener el suelo húmedo hasta que la planta lo sombree para no superar el umbral térmico que afecta su expresión (Rich y Olson, 1999).

A pesar de que se dispone de cultivares resistentes de tomate desde hace más de 20 años, su uso como método de control no está muy extendido, todo y que el efecto perdura durante el siguiente cultivo, como se ha observado en la rotación con pepino en invernadero (Ornat *et al.*, 1997) y en aire libre (Hanna *et al.*, 1993). En este estudio, la densidad de población del nematodo al final del cultivo y la producción de tomate resistente fue similar después del segundo y tercer cultivo de tomate. Así, en nuestras condiciones y con poblaciones iniciales en torno a 650 J2 en 250 cm<sup>3</sup> de suelo, dos cultivos de tomate resistente serán necesarios para proteger al siguiente cultivo susceptible, aunque este aspecto debe ser estudiado en mayor profundidad. Complementariamente, el uso de otros métodos de control, como los fumigantes 1,3 dicloropropeno o metam sodio, aceptados por el Methyl Bromide Technical Options Committee como alternativas al bromuro de metilo (2002), podrían ser utilizados en suelos con altos niveles de infestación para disminuir el daño que el nematodo puede causar al primer cultivo.

Dado que la agricultura es una actividad económica, el uso de cualquier medida de control sólo estará justificada si el coste de la cosecha salvada es igual o mayor al coste de intervención. La relación coste-eficacia de los cultivares resistentes, según el umbral de beneficio, ha mostrado que el uso de estos está económicamente justificado ya que el cultivar resistente Monika produjo 5,6, 4,4 y 4,7 kg/m<sup>2</sup> más que el susceptible Durinta en suelo no desinfestado durante el primer, segundo y tercer cultivo, respectivamente. Además, la producción del cultivar resistente es más estable, como se ha observado en otros cultivos, como el cv. NemX de algodón resistente a *M. incognita* (Ogallo *et al.*, 1999). El tratamiento con bromuro de metilo como alternativa al uso del cultivar resistente no se justificaba económicamente ya que para ello, el tomate susceptible en suelo desinfestado debería producir 1,7, 1,2 y 1,1 kg/m<sup>2</sup> más que el resistente en suelo no desinfestado, y la producción fue 3,1, 0,1 y -2,4 kg/m<sup>2</sup>, respectivamente.

En conclusión, los cultivares de tomate portadores del gen *Mi* de resistencia a *Meloidogyne* son un método de control económica y técnicamente factible que debe ser utilizado en el marco del manejo integrado. Su uso debe considerar los factores que afectan la expresión del gen como son la capacidad reproductora de las poblaciones del nematodo, la respuesta de los genotipos de tomate portadores del gen y las condiciones ambientales del área de producción a fin de preservar su durabilidad. El uso de cultivares resistentes será de especial importancia en aquellos sistemas de producción que prohíben o restringen la desinfestación química del suelo, como son la Producción Ecológica y la Producción Integrada. Además, el gen *Mi* de resistencia también se muestra efectivo frente el pulgón *Macrosiphum euphorbiae* (Rossi *et al.*, 1998) y frente los biotipos Q (Nombela *et al.*, 2001) y B (Jiang *et al.*, 2001) de *Bemisia tabaci*.

## AGRADECIMIENTOS

El estudio está enmarcado en el proyecto AGF-1999-0560 financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT). Los autores agradecen a los Drs. J. Rich y M. Talavera los comentarios al manuscrito.

## BIBLIOGRAFÍA

- BUSQUETS, O., SORRIBAS, F.J. y VERDEJO-LUCAS, S. 1994. Potencial reproductor del nematodo *Meloidogyne* en cultivos hortícolas. Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetal 9: 1-7.
- CASTAGNONE-SERENO, P., BONGIOVANNI, M. y DALMASSO, A. 1993. Stable virulence against tomato resistance *Mi* gene in the parthenogenetic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Phytopathology 83: 803-805.
- DROPKIN, V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. Phytopathology 59: 1632-1637.
- EDDAOUDI, M., AMMATI, M. y RAMMAH, A. 1997. Identification of resistance breaking populations of *Meloidogyne* on tomatoes in Morocco and their effect on new sources of resistance. Fundamental and Applied Nematology 20: 285-289.
- ESMENJAUD, D., LA MASSÈSE, C.S., SALESSES, G., MINOT, J.C. y VOISIN, R. 1992. Method and criteria to evaluate resistance to *Meloidogyne arenaria* in *Prunus cerasifera* Her. Fundamental and Applied Nematology 15: 385-389.
- ESMENJAUD, D., MINOT, J.C. y VOISIN, R. 1996. Effects of durable inoculum pressure and high temperature on root galling, nematode numbers and survival of Myrobalan plum genotypes (*Prunus cerasifera* Her) highly resistant to *Meloidogyne* spp. Fundamental and Applied Nematology 19: 85-90.
- HANNA, H.Y., COLYER, P.D., KIRKPATRICK, T.L., ROMAINE, D.J. y VERNON, P.R. 1993. Improving yield of cucumbers in nematode infested soil by double-cropping with a resistant tomato cultivar, using transplants and nematicides. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 106: 163-165.
- HOLLIDAY, P. 1989. A Dictionary of Plant Pathology. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- HUSSEY, R.S. y BARKER, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease 57: 1025-1028.
- JARQUIN-BARBERENA, H., DALMASSO, A., DE GUIRAN, G. y CARDIN, M. 1991. Acquired virulence in the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. 1. Biological analysis of the phenomenon. Revue de Nématologie 14: 261-275.
- METHYL BROMIDE TECHNICAL OPTIONS COMMITTEE. 2002. 2002 Report of the methyl bromide technical options committee. United Nations Environment Program. Ozone Secretariat. Nairobi, Kenya.
- JIANG, Y.X., NOMBELA, G. y MUÑIZ, M. 2001. Analysis by DC-EPG of the resistance to *Bemisia tabaci* on an *Mi*-tomato line. Entomologia Experimentalis et Applicata 99: 259-302.
- NETSCHER, C. 1976. Observations and preliminary studies on the occurrence of resistance breaking biotypes of *Meloidogyne* spp. on tomato. Cahier ORSTOM Série Biologie 11: 173-178.
- NOLING, J.W. 2000. Effects of continuous culture of a resistant tomato cultivar on *Meloidogyne incognita* soil population density and pathogenicity. Journal of Nematology 32:452.
- NOMBELA, G., BEITIA, F. y MUÑIZ, M. 2001. A differential interaction study of *Bemisia tabaci* Q-biotype on commercial tomato varieties with or without the *Mi* resistance gene, and comparative host responses with the B-biotype. Entomologia Experimentalis et Applicata 98: 339-344.

- OGALLO, J.L., GOODELL, P.B., ECKERT, J.W. y ROBERTS, P.A. 1999. Management of root-knot nematodes with resistant cotton cv. NemX. *Crop Science* 39: 418-421.
- ORNAT, C. y VERDEJO-LUCAS, S. 1999. Distribución y densidades de población de *Meloidogyne* spp. en cultivos hortícolas de la comarca de El Maresme (Barcelona). *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetal* 14: 191-201.
- ORNAT, C., VERDEJO-LUCAS, S. y SORRIBAS, F.J. 1997. Effect of the previous crop on population densities of *Meloidogyne javanica* and yield of cucumber. *Nematologica* 27: 85-90.
- ORNAT, C., VERDEJO-LUCAS, S. y SORRIBAS, F.J. 2001. A population of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the *Mi* resistance gene in tomato. *Plant Disease* 85: 271-276.
- PEDIGO, 1989. *Entomology and pest management*. Macmillan, New York, USA.
- PHILIS, J. 1983. Occurrence of *Meloidogyne* spp. and races on the island of Cyprus. *Nematologia Mediterranea* 11: 13-19.
- PHILIS, J. y VAKIS, N. 1977. Resistance of tomato varieties to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in Cyprus. *Nematologia Mediterranea* 5: 39-44.
- PROT, J.C. 1984. A naturally occurring resistance breaking biotype of *Meloidogyne arenaria* on tomato. Reproduction and pathogenicity on tomato cultivars Roma and Rossol. *Revue de Nématologie* 7: 23-28.
- RICH, J.R. y OLSON, S.M. 1999. Utility of *Mi* gene resistance in tomato to manage *Meloidogyne javanica* in North Florida. *Journal of Nematology* 31: 715-718.
- ROBERTS, P.A. 1995. Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematodes related to host plant resistance. *Annual Review of Phytopathology* 33: 199-221.
- ROBERTS, P.A. 2002. Concepts and consequences of resistance. In Starr JL, Cook R y Bridge J (eds.) *Plant resistance to parasitic nematodes* (pp. 23-41) CABI Publishing, Wallingford, UK.
- ROBERTS, P.A. y THOMASON, I.J. 1989. A review of variability in four *Meloidogyne* spp. measured by reproduction on several hosts including *Lycopersicon*. *Agricultural Zoology Reviews* 3: 225-252.
- ROSSI, M., GOGGIN, F.L., MILLIGAN, S.B., KALOSHIAN, I., ULLMAN, D.E. y WILLIAMSON, V.M. 1998. The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 95: 9750-9754.
- SMITH, P.G. 1944. Embryo culture of a tomato species hybrid. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science* 44: 413-416.
- SORRIBAS, F.J. y VERDEJO-LUCAS, S. 1994. Survey of *Meloidogyne* spp. in tomato production fields of Baix Llobregat county, Spain. *Journal of Nematology* 26: 731-736.
- SORRIBAS, F.J. y VERDEJO-LUCAS, S. 1999. Capacidad parasitaria de *Meloidogyne* spp. en cultivares de tomate resistentes. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetal* 14: 237-247.
- STARR, J.L., BRIDGE, J. y COOK, R. 2002. Resistance to plant-parasitic nematodes: History, current use and future potential. In Starr JL, Cook R y Bridge J (eds.) *Plant resistance to parasitic nematodes* (pp. 1-22) CABI Publishing, Wallingford, UK.
- TZORTZAKAKIS, E.A. y GOWEN, S.R. 1996. Occurrence of a resistance-breaking pathotype of *Meloidogyne javanica* on tomatoes in Crete, Greece. *Fundamental and Applied Nematology* 19: 283-288.

- TZORTZAKAKIS, E.A., TRUDGILL, D.L. y PHILLIPS, M.S. 1998. Evidence for a dosage effect of the *Mi* gene on partially virulent isolates of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology* 30: 76-80.
- VERDEJO-LUCAS, S., ORNAT, C., SORRIBAS, F.J. y STCHIGEL, A. 2002. Species of root-knot nematodes and fungal egg parasites recovered from vegetables in Almería and Barcelona, Spain. *Journal of Nematology* 34: 405-408.
- VERDEJO-LUCAS, S., SORRIBAS, F.J., ORNAT, C. y GALEANO, M. 2003. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double-cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica*. *Plant Pathology* 52: 521-528.
- WHITEHEAD, A.G. y HEMMING, J.R. 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology* 55: 25-38.
- WILLIAMSON, V.M. 1988. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. *Annual Review Phytopathology* 36: 277-293.
- ZECK, W.M. 1971. A rating scheme for field evaluation of root-knot nematode infestations. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 24: 141-144.

Tabla 1. Densidades de población inicial (Pi) y final (Pf) de *Meloidogyne javanica* en suelo, número de huevos por gramo de raíz, e índice de agallas en el cultivar de tomate portador del gen *Mi* de resistencia Monika y en el susceptible Durinta durante tres campañas consecutivas de cultivo en invernadero

| Cultivar    | Año  | Nematodos 250 cm <sup>3</sup> suelo |                   | Índice de agallas <sup>a</sup> | Huevos g raíz     |
|-------------|------|-------------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|
|             |      | Pi                                  | Pf                |                                |                   |
| Monika (R)  | 1999 | 660 ± 413 a                         | 860 ± 338 a       | 0,8 ± 0,3 a                    | ne <sup>b</sup>   |
|             | 2000 | 10 ± 8 b                            | 190 ± 235 b       | 0,1 ± 0,1 b                    | 88 ± 95 a         |
|             | 2001 | 28 ± 30 b                           | 190 ± 236 b       | 0,3 ± 0,4 b                    | 4.700 ± 9.300 a   |
| Durinta (S) | 1999 | 480 ± 240 a                         | 29.710 ± 4.770 a  | 7,0 ± 0,2 a                    | ne                |
|             | 2000 | 310 ± 186 b                         | 13.400 ± 5.560 ab | 6,5 ± 0,8 a                    | 50.300 ± 18.000 a |
|             | 2001 | 530 ± 103 a                         | 10.356 ± 4.475 b  | 7,0 ± 0,3 a                    | 42.700 ± 14.400 a |

(R) = resistente; (S) = susceptible. Valores son media ± desviación estándar de cuatro repeticiones. Para cada cultivar de tomate, valores en la misma columna seguida por una letra diferente son significativamente diferentes según la prueba LSD ( $P \leq 0,05$ ).

<sup>a</sup> Basado en una escala de 0 (sin agallas) a 10 (severamente afectado, raíces muertas) (Zeck, 1971). Se examinaron 32 plantas de cada cultivar.

<sup>b</sup> Dato no evaluado.

Tabla 2. Producción del cultivar de tomate resistente Monika (R) y del susceptible Durinta (S) en invernadero durante tres años consecutivos en parcelas desinfestadas con bromuro de metilo y no desinfestadas y valor de la cosecha

| Tomate      | Año        | Producción de tomate (kg/m <sup>2</sup> ) |                 | Valor de la cosecha <sup>b</sup> (euros/m <sup>2</sup> ) |                 |
|-------------|------------|---|-----------------|--|-----------------|
|             |            | Desinfestado <sup>a</sup>                 | No desinfestado | Desinfestado   | No desinfestado |
| Monika (R)  | 1999       | 13,9 ± 1,0 a *                            | 12,1 ± 0,9 a    | 6,53   | 5,69            |
|             | 2000       | 13,4 ± 0,8 a                              | 14,1 ± 1,7 a    | 9,40   | 9,85            |
|             | 2001       | 13 ± 1,6 a                                | 14,6 ± 2,2 a    | 9,22   | 10,37           |
| Durinta (S) | 1999       | 15,2 ± 1,0 a *                            | 6,5 ± 1,2 b     | 7,14   | 3,05            |
|             | 2000       | 14,2 ± 1,1 a *                            | 9,7 ± 1,6 a     | 9,93   | 6,79            |
|             | 2001       | 12,2 ± 1,3 b *                            | 9,9 ± 1,2 a     | 8,62   | 7,05            |
| Media       |            |   |                 |  |                 |
|             | Resistente | 13,4 ± 1,2 a                              | 13,6 ± 1,9 a    | 8,38   | 8,63            |
| Susceptible |            | 13,9 ± 1,7 a *                            | 8,7 ± 2,1 b     | 8,56   | 5,63            |

(R) = resistente; (S) = susceptible. Valores son media ± desviación estándar de 32 plantas. Para cada cultivar de tomate, los datos en la misma columna seguido de diferente letra son diferentes significativamente según la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD) ( $P \leq 0,05$ ). Valores en la misma línea seguidos de \* son diferentes significativamente según la prueba t de Student ( $P \leq 0,05$ ).

<sup>a</sup> Bromuro de metilo aplicado en octubre 1998 a razón de 75 g/m<sup>2</sup>.

<sup>b</sup> El precio medio del tomate fue de 0,47, 0,70 y 0,71 euros/kg en 1999, 2000 y 2001, respectivamente.

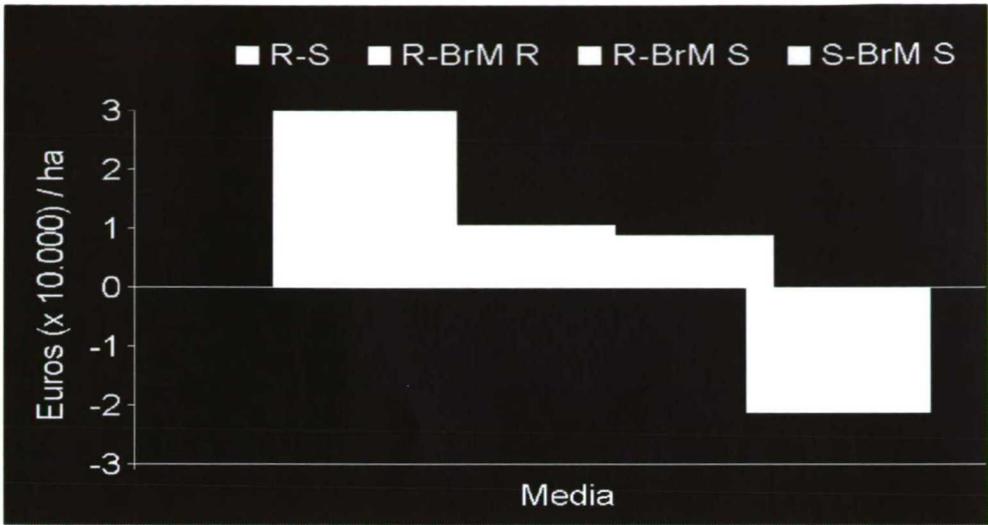


Figura 1

BALANCE ECONÓMICO DE CULTIVAR TOMATE RESISTENTE CV. MONIKA Y SUSCEPTIBLE CV. DURINTA DURANTE TRES AÑOS CONSECUTIVOS EN PARCELAS DESINFESTADAS CON BROMURO DE METILO (75 g/m<sup>2</sup>), Y NO DESINFESTADAS, EN UN INVERNADERO INFESTADO POR *MELOIDOGYNE JAVANICA*. EL VALOR MEDIO DE LA COSECHA FUE DE 0,47, 0,70 Y 0,71 EUROS/kg EN 1999, 2000 Y 2001. EL COSTE DE DESINFESTACIÓN DEL SUELO FUE DE 2,44 EUROS/m<sup>2</sup>

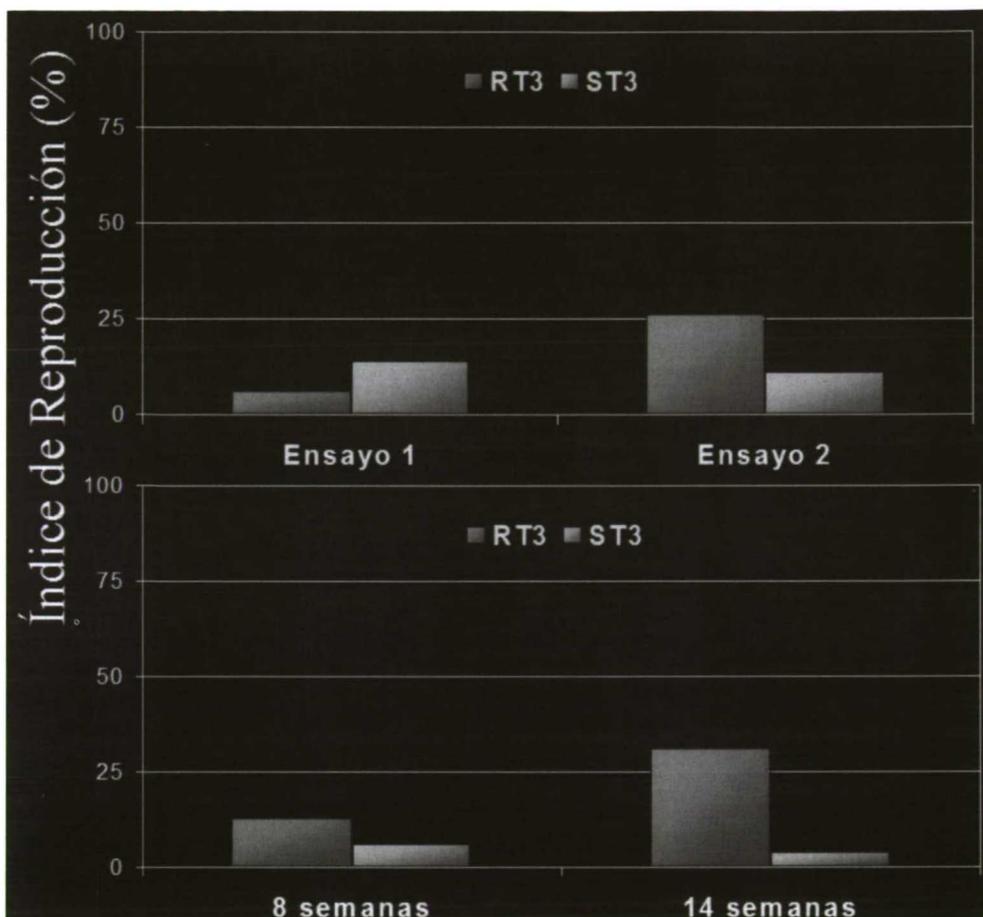


Figura 2

ÍNDICE DE REPRODUCCIÓN ((PF TOMATE RESISTENTE/PF TOMATE SUSCEPTIBLE) × 100) EN LOS ENSAYOS DE EVALUACIÓN DE LA VIRULENCIA (A) Y DE DURABILIDAD DE LA RESISTENCIA (B). PARA CADA EXPERIMENTO (A) O TIEMPO DE COSECHA (B) NO HUBO DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ( $P > 0,05$ ) ENTRE ÍNDICES DE REPRODUCCIÓN SEGÚN LA PRUEBA *T* DE STUDENT