

COMPORTAMIENTO DEL PIMIENTO EN INOCULACION ARTIFICIAL FRENTE AL
VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO (Cucumber Mosaic Virus - CMV)

Ramiro Gil Ortega (1)
Unidad de Horticultura

Marisol Luis Arteaga
Dpto. de Protección Vegetal

C.R.I.D.A. 03 - I.N.I.A.

Zaragoza

1. INTRODUCCION

Uno de los virus más comúnmente presentes en los cultivos de pimiento - al aire libre en nuestro país es el Virus del Mosaico del Pepino (LUIS y GIL, - 1982). Su importancia ha sido anteriormente puesta de manifiesto por diferentes autores en América (BARRIOS et al. 1971), Europa (MESSIAEN et al. 1963; CONTI y SACCARDO, 1975; RUSKO y CSILLERY, 1980), Asia (NITZANY, 1975; SINGH y THAKUR, - 1977) y Africa (LOCKHART y FISCHER, 1976).

El control de este virus, como todos los transmitidos por áfidos de forma 'no-persistente' resulta bastante problemático (ZITTER, 1980; GIL y LUIS -- 1982) por lo que la resistencia genética podría ser una buena respuesta al problema. Diversas son las referencias en la literatura sobre material resistente (Cuadro 1) que podría ser utilizado en un programa de mejora genética. Sin embargo, también hay numerosas dificultades en la realización de la misma, fundamentalmente porque no se conoce una resistencia estable (POCHARD, 1977; RUSKO y CSILLERY, 1980) o porque la resistencia puede depender de la edad de la planta, siendo más sensible en estado juvenil (POCHARD y BREUILS, 1965; WEBB y SMITH, - 1969).

En España no se conocen intentos de obtención de resistencia a CMV. Es por ello que desde 1977 venimos realizando inoculaciones sobre diverso material extranjero potencialmente portador de resistencia así como, sobre variedades -

(1) Con la colaboración de J. Ansón, M^a A. Berges, F. Marco y J. Pallarés.

autóctonas. En la presente comunicación se exponen los resultados obtenidos hasta ahora.

CUADRO 1. VARIEDADES SOBRE LAS QUE SE HA SEÑALADO ALGUN TIPO DE RESISTENCIA AL CMV

V A R I E D A D E S	R E F E R E N C I A S
Tolerancia de 'Antibois' y 'Sucette'	POCHARD y BREUILLS, 1965
Resistencia a algunas cepas en 'P.I. 250771'	WEBB y SMITH, 1969
Tolerancia de 'LP-1' basada en un gen recesivo	BARRIOS et al., 1971
Resistencia en variedades de las especies <u>C. microcarpum</u> , <u>C. pendulum</u> y <u>C. chinense</u>	POCHARD y CHAMBONNET, 1972
Tolerancia en '241670', '273428' y '256058'	CONTI y SACCARDO, 1975
Resistencia de 'Perennial', 'S-118-2', 'S41-1', 'S5-4' y 'S20-1'	SINGH y THAKUR, 1977
Tendencia a escapar de la infección en 'LP-1' Tolerancia en ' <u>C. baccatum</u> 3-4' y 'Antibois'. Resistencia de campo en 'Moura', 'Ikeda' y 'Avelar'. Moderada sensibilidad en 'Yolo Y'.	POCHARD, 1977
Confirma en líneas generales resultados anteriores (POCHARD, 1977) y añade como material resistente 'Perennial'.	POCHARD, 1978
Resistencia en 'Perennial'. Tolerancia de 'LP-1' y ' <u>C. baccatum</u> 2', etc., ... por este orden	RUSKO y CSILLERY, 1980

2. MATERIAL Y METODOS

El material vegetal utilizado, aparece en el Cuadro 3. Durante 1981 se inocularon también conjunta y simultáneamente los parentales y diversas descendencias (F₁, F₂ y F₃) del cruce LP1 x Morrón (Cuadro 4).

El inóculo fué utilizado a dilución 1/5 y preparado a partir de hojas -

de Nicotiana tabacum var. 'Xanthi n/c' frescas o conservadas deshidratadas en - Cl₂Ca (BOS, 1977), según el método descrito por MARROU (1967).

El 'aislamiento' de CMV utilizado procede de pimiento cv 'Yolo Wonder' cultivado en maceta en invernaderos del CRIDA 03 (Zaragoza, Junio 1975) infectado de forma natural, el cual manifestaba mosaico apical muy neto en manchas irregulares de color verde claro - verde oscuro, identificado sobre especies indicadoras según consta en el Cuadro 2. Además las partículas virales fueron observadas por microscopía electrónica (1).

Las plantas a inocular fueron repicadas a macetas de 7x7x7 cm en estado 'dos hojas verdaderas'. Como substrato se empleó una mezcla de turba, tierra y arena a partes iguales desinfectada a vapor. Los ensayos se realizaron en invernadero climatizado haciendo la inoculación en primavera y observando las plantas hasta el invierno siguiente. En algunos casos las variedades o descendencias -- fueron inoculadas simultáneamente en dos estados vegetativos diferentes que denominamos 'juvenil' (J) y 'adulto' (A) considerando como planta adulta aquella en que es visible al menos el primer botón floral. Para conseguir simultáneamente plantas en ambos estados se programaron las siembras escalonadamente.

Las plantas fueron contaminadas artificialmente por inoculación mecánica aplicando el inóculo sobre 3-4 hojas intermedias. Se incluyeron 7 plantas por variedad y estado vegetativo y un número mayor y variable en el caso de líneas segregantes. Una variedad se consideró como resistente (R) cuando ninguna de sus plantas mostraba síntomas del virus; sensible (S) es la variedad con todas sus plantas virosadas; en las restantes se ha anotado 'respuesta irregular' (*). Para la aparición de síntomas se esperó en algún caso hasta 10 meses, siendo necesario, a medida que desarrollaban las plantas, transplantarlas a macetas de mayor tamaño. Sin embargo, lo normal en las variedades sensibles era que mostrasen síntomas en todas las plantas al cabo de un mes de la inoculación.

(1) Estas pruebas han sido realizadas en el Laboratorio de Virología Vegetal del CRIDA 06 por el Sr. FRESNO

CUADRO 2. ESPECIES INDICADORAS Y REACCIONES DEL 'AISLAMIENTO' DE CMV PROCEDENTE DE PIMIENTO CV YOLO WONDER

c = clorótico - Dts = puntos (Dots) - ll = lesiones locales - Mo = Mosaico - n = necrótico - O = ninguna reacción visible - S = manchas (spots)

Familia y Especie	Reacción	
	Local	Sistémica
CUCURBITACEAS		
Cucumis melo cv 'Cantaloup charantais'	O	Mo
Cucumis sativus cv 'vert long maraîcher'	llc	Mo
Cucurbita pepo cv 'F ₁ Diamant'	O	Mo
CHENOPODIACEAS		
Chenopodium amaranticolor Coste & Reyn	Dts n	O
Chenopodium quinoa Wild	lln	O
PAPILIONACEAS		
Phaseolus mungo var 'aureus'	lln	O
Vigna sinensis var 'Black local'	lln	O
SOLANACEAS		
Capsicum annuum cv 'Yolo Wonder'	Sc	Mo
Capsicum annuum cv 'Doux des Landes'	O	Mo
Nicotiana glutinosa	O	Mo
Nicotiana tabacum var 'Xanthi nc'	O	Mo
Nicotiana tabacum var 'Samsun'	O	Mo

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de inoculación de variedades se recogen en el Cuadro 3. Del mismo se deduce que se muestran como resistentes (o tolerantes, ya que todavía no se han hecho retroinoculaciones).

- Capsicum baccatum var pendulum 'CMV-3'. Línea seleccionada por nosotros en 1977 a partir de una entre varias plantas resistentes tras inoculación de un lote de C. baccatum var pendulum.
- 'Perennial' (J. Singh, India)
- 'S20-1' (" " ")
- 'S20-1b' (" " ")
- 'S118-2' (" " ")

Estos resultados se muestran concordantes con los de SINGH y THAKUR -- (1977) en la India, POCHARD (1978) en Francia y RUSKO y CSILLERY (1980) en Hungría y abren nuevas perspectivas a la mejora genética en este campo, si bien, C. baccatum presenta numerosos inconvenientes a la hora de su cruzamiento con C. annuum (DUMAS DE VAULX y PITRAT, 1977).

En el Cuadro 3 también puede verse cómo hay variedades que no han podido ser claramente clasificadas como resistentes o sensibles debido a que en algún caso han dado 'respuesta irregular', son: 'LP-1', 'Ikeda-1', 'Canada Cheese', 'Largo de Reus', 'Choricero', e 'INIA 72' (Morrón). Las plantas sin síntomas que aparecen tras inoculación en estas variedades pueden ser escapes o plantas tolerantes. Probablemente son escapes en el caso de:

- 'Choricero', ya que la descendencia de dos plantas sin síntomas de 1977, las líneas 'Choricero CMV-2p.1.' y 'Choricero CMV-3p.1.', aparecen como sensibles en 1980 y vuelven a dar respuesta irregular en 1981.
- 'INIA 72', ya que la descendencia de una planta sin síntomas de 1977, la línea 'INIA 72 CMV-1', aparece como sensible posteriormente.

No podemos aclarar la situación en el caso de 'Canada Cheese', 'Largo de Reus', e 'Ikeda-1', si bien, cabe apuntar que sobre esta última variedad, -- POCHARD (1977) ha señalado resistencia de campo.

El caso de 'LP-1' vamos a discutirlo más detenidamente. De la consideración del Cuadro 4 podría concluirse que 'LP-1' tiene una especial tendencia a escapar de la infección⁽¹⁾, hecho también señalado por POCHARD (1977). Sin embargo, si se comparan los resultados del Cuadro 4 para las F₃ obtenidas de F₂ no inoculadas y F₂ seleccionadas para resistencia a CMV, podría decirse que la tendencia en 'LP-1' a escapar de la infección no depende exclusivamente de las circunstancias de la misma, sino que también podría tener una componente genética.

Una explicación, a comprobar en el futuro, a estos datos, en cierto modo desconcertantes, podría ir en la línea del hecho admitido con otras variedades de que la expresión de la resistencia se realice en estado adulto y no juvenil (POCHARD y BREUILS, 1965; WEBB y SMITH, 1969). Sabemos que 'LP-1' alcanza su estado adulto, definido como 'al menos primer botón floral visible', más de un mes después que la mayoría de las variedades. De hecho, hasta ahora no hemos podido inocularlo en ese estado conjuntamente con otras variedades en siembras simultáneas.

Si la expresión de la resistencia de 'LP-1' dependiera del estado vegetativo de la planta (a su vez determinado por un cierto nivel hormonal en la misma, que no tendría que corresponderse exactamente con el estado adulto definido anteriormente) las cuatro plantas de 'LP-1 CMV-4 p.l.' que aparecen sin síntomas (Cuadro 4) podrían haber alcanzado el nivel hormonal necesario para expresar su resistencia⁽²⁾ antes que las otras 10 plantas. Así mismo, las diferencias entre

(2) 0 tolerancia: En algún caso hemos comprobado la presencia del virus en plantas de 'LP-1' sin síntomas, hecho también apuntado por CORDREY y BERGMAN (1979)

(1) Nuestros trabajos no fueron encaminados a detectar la tolerancia (síntomas ligeros de mosaico) que le atribuyen -- BARRIOS et al. (1971).

los dos grupos de F_3 del Cuadro 4, podría ser explicada suponiendo que las F_2 sin síntomas habrían sido seleccionadas para resistencia y por consiguiente, indirecta e involuntariamente, para expresarla antes, carácter que sería aportado fundamentalmente por el parental 'Morrón'.

CUADRO 4. RESULTADOS DE INOCULACION SIMULTANEA EN 1981 DE 'MORRON', 'LP-1' Y DIVERSAS GENERACIONES PROCEDENTES DE SU CRUCE, EN LOS DOS ESTADOS VEGETATIVOS, JUVENIL (J) Y ADULTO (A).

Variedad ó Descendencia	E S T A D O (1)	Nº Plantas Inoculadas	Número de Plantas		
			Sin síntomas de C.M.V.	Con síntomas de C.M.V.	
Morrón	J	14	0	14	
	A	14	0	14	
	J+A	28	0	28	
LP-1 CMV 4 p.l. (2)	J	14	4	10	
F ₁ (LP-1 x Morrón)	J	7	0	7	
	A	7	0	7	
	J+A	14	0	14	
F ₂ (LP-1 x Morrón)	A	158	17	141	
F ₃ (LP-1 x Morrón)	Obtenidas de plantas F ₂ sin síntomas tras inoculación.	J	21	8	13
		A	20	9	11
		J+A	41	17	24
	Obtenidas de plantas F ₂ no inoculadas.	J	31	3	28
		A	37	12	35
		J+A	68	15	53

(1) En el caso de 'LP-1' y sus descendencias no siempre se conseguía el 100% de las plantas de los lotes A en dicho estado.

(2) Descendencia de una planta sin síntomas de las inoculaciones en 1.977.

B I B L I O G R A F I A

- BARRIOS, E.P., MOSOKAR, H.I., BLACK, L.L., 1971. Inheritance of resistance to Tobacco Etch and Cucumber Mosaic viruses in Capsicum frutescens. Phytopathology, 61, (10), 1318.
- BOS L., 1977. Persistence of infectivity of three viruses in plant material dried over Cl_2Ca and stored under different conditions. NETH J. PL. PATH., 83: - 217-220.
- CONTI, M., SACCARDO, F., 1975. Testing some american lines of pepper for resistance to cucumber mosaic virus italian isolates. 2nd Intern. Confer. on Progress and Problems in Vegetable Virus Research. ISHS - Eucarpia. Montfavet, p. 19.
- CORDREY, T.D., BERGMAN, E., 1979. Influence of Cucumber Mosaic Virus on growth and elemental composition of susceptible and resistant peppers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 104 (4): 505-510.
- DUMAS de VAULX, R., PITRAT, M., 1977. Croisement interspecific entre C. annum et C. bacatum. Third Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum. -- INRA Montfavet: 75-81
- GIL, R., LUIS, Marisol, 1982. Consideraciones sobre el uso de aceites minerales en el control de virosis en pimiento. (En prensa).
- LOCKHART, B.E.L., FISCHER, H.U., 1976. Cucumber mosaic virus infections of pepper in Morocco. Plant Dis. Repr., 60: 262-264
- LUIS, Marisol GIL, R., 1982. Comportamiento del pimiento frente a virus en condiciones de infección natural. Resultados preliminares. IV Jornadas de Selección y Mejora de Tomate y Pimiento. CRIDA 03 (INIA) Zaragoza: 325-346
- MARROU J., 1967. Amélioration des méthodes de transmission mécanique des virus - par adsorption des inhibiteurs d'infection sur le charbon végétal. C.R. ACAD. AGR. FR. 53 972-981

- MESSIAEN C.M., MAISON P., MIGLIORI, A. 1963. Le Virus I du Cocombre dans le Sud-Este de la France. Phytopathologia Mediterranea, II: 251-260:
- NITZANY, F.E., 1975. Cucumber Mosaic Virus in Israel. Phytopathologia Mediterranea. XIV: 16-20.
- POCHARD, E., 1977, Méthodes por l'étude de la résistance partielle au virus du combre chez le piment. Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum. Montfavet. 93-104
- POCHARD, E., 1978. Rapport d'activité 1977-78. Station d'Amelioration des Plantes Maraichères. Montfavet. 62-63.
- POCHARD, E., BREUILS, G., 1965. La résistance du piment (Capsicum annum L.) à la mosaïque du tabac et au virus 1 du concombre. Modalités et transmission héréditaire. 1ère Journées de Phytiaitire et de Phytopharmacie Circum-Mediterranéennes. Marsella.
- POCHARD, E., CHAMBONET, D., 1972. Méthodes de sélection du piment pour la resistance au Phytophthora capsici et au Virus du concombre. Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum. Turin. 270-281.
- RUSKO, J., CSILLERY, G., 1980. Selection for CMV résistance pepper by the method developed by Pochard. (Ejemplar a multicopia).
- SINGH, J., THAKUR, M.R., 1977. Genetics of resistance to Tabacco Mosaic Virus, - Cucumber Mosaic Virus and Leaf-Curl Virus in hot pepper (Capsicum annum L.) Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum. Montfavet. 119-126.
- WEBB, R.E., SMITH, P.G., 1969. Resistance to cucumber mosaic virus in Capsicum frutescens. Phytopathology, 59, 1561
- ZITTER, T.A., 1980. Florida virus desease control. American Vegetable Grower, Abril, 12-16.