

Estado actual del uso de marcadores moleculares en el diagnóstico y control genético de enfermedades de naranjilla *Solanum quitoense*

Current status of the use of molecular markers in the diagnosis and genetic control of diseases of *Solanum quitoense*

Patricio Castro-Quedaza ^{1*}
Iván Belesaca-Morocho ¹
Lourdes Díaz-Granda ¹

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

*Autor para correspondencia: patricio.castro@ucuenca.edu.ec

DOI: <https://doi.org/10.54753/blc.v11i2.1063>

RECIBIDO: 17/08/2021

APROBADO: 27/10/2021

RESUMEN

La naranjilla o lulo (*Solanum quitoense*) es un importante cultivo frutal originario del noroeste de Sudamérica que se siembra principalmente en Colombia y Ecuador. Este cultivo tiene cada vez mayor demanda a nivel mundial. Sin embargo, es muy susceptible al ataque de plagas y enfermedades. En el Ecuador, los principales patógenos que atacan a la naranjilla son *Fusarium oxysporum*, *Meloidogyne incognita*. Además, se ha detectado un virus de la familia Tymoviridae, a la que se denominó Naranjilla chlorotic mosaic virus (NarCMV) y un virus que causa mosaico al que se ha denominado Naranjilla mild mosaic virus (NarMMV). La presencia de estos patógenos ha sido detectada con el uso de diferentes técnicas moleculares. El presente reporte presenta el estado actual en el uso de marcadores moleculares, tanto en el diagnóstico de enfermedades, como en la detección de información relacionada a la resistencia en el cultivo de naranjilla.

Palabras clave: Naranjilla, marcadores moleculares, enfermedades de la naranjilla

■ ABSTRACT

Naranjilla or lulo (*Solanum quitoense*) is an important native fruit crop to northwestern South America. It is planted mainly in Colombia and Ecuador and is increasingly in demand worldwide. However, it is very susceptible to attack by pests and diseases. In Ecuador, the main pathogens that attack naranjilla are *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita*. In addition, a virus of the Tymoviridae family has been detected, which was called Naranjilla chlorotic mosaic virus (NarCMV) and a virus that causes mosaic that has been called Naranjilla mild mosaic virus (NarMMV). Presence of these pathogens has been detected in using different molecular techniques. This report presents the current status in the use of molecular markers, both in diagnosis of diseases and in detection of information related to resistance in naranjilla crop.

Keywords: Naranjilla, molecular markers, naranjilla diseases

■ INTRODUCCIÓN

La naranjilla o conocido como “lulo” en Colombia es un importante cultivo frutal en Ecuador. Según Whalen y Caruso (1983) las solanáceas de la sección Lasiocarpa se encuentran principalmente en el noreste de Sudamérica y el origen de la naranjilla posiblemente esté entre Colombia y Ecuador (Council, 1989). Es una planta herbácea perenne que pertenece a la familia Solanaceae y cuyo fruto tiene un sabor ácido y exótico (Ramírez *et al.*, 2018).

La naranjilla es considerada como un cultivo con un gran potencial económico. Se utiliza principalmente para hacer jugos, helados, jaleas y otros dulces (Heiser, 1993). Además, se ha encontrado que los frutos de naranjilla presentan compuestos benéficos para la salud, como antioxidantes, carotenoides, compuestos fenólicos, 13-cis- β -caroteno, 9-cis- β -caroteno, trans- β -caroteno, luteína, ácidos clorogénicos, hexósidos en la pulpa y glucósidos de flavonol en la corteza (Gancel *et al.*, 2008; Lim, 2013). También es fuente de vitaminas E, C, B1, B2, B3, B6, provitamina A, minerales (hierro, calcio, fósforo, potasio y nitrógeno), carbohidratos y proteínas (Pratt *et al.*, 2008).

En la Amazonía ecuatoriana la naranjilla constituye una importante fuente de ingresos económicos para los agricultores debido a las condiciones adecuadas para el desarrollo del frutal. La principal variedad cultivada en la Amazonía del Ecuador es *S. quitoense* Var. *quitoense* sin espinas. Los cultivares que más se siembran y comercializan son: el híbrido Puyo (61%), híbrido Palora (38 %) y la variedad común (1 %) (Chong y Andrade, 2001).

■ DESARROLLO

Enfermedades de a naranjilla

La naranjilla a pesar de las inmensas perspectivas de crecimiento en los mercados internacionales se ha visto limitada por la susceptibilidad de las plantas a diferentes plagas y enfermedades. Estos problemas tradicionalmente se resuelven desmontando áreas vírgenes para establecer nuevos cultivos o con la aplicación de productos químicos. Existen diversos estudios que muestran que el uso de sustancias agroquímicas para el control aumenta los costos de producción y también se ha encontrado residuos químicos en las frutas (Sowell y Shively, 2012; Clements *et al.*, 2017). El hongo *F. oxysporum* y los nematodos del nudo de la raíz se han considerado las enfermedades más importantes de la naranjilla (Dennis *et al.*, 1985; Mosquera-Espinosa, 2016); sin embargo, en los últimos años se ha logrado la identificación de enfermedades virales mediante técnicas de biología molecular (Vaca *et al.*, 1999; Gallo *et al.*, 2018).

Pudrición radicular

Uno de los principales problemas en la naranjilla es la marchitez vascular, causada principalmente por *Fusarium oxysporum* que puede llegar a ocasionar hasta un 80% de pérdidas en el cultivo (Alwang *et al.*, 2002). Se ha demostrado en diversos cultivos que las pérdidas económicas pueden incrementarse cuando se presenta la interacción entre el hongo y el nematodo *Meloidogyne incognita*. Esta interacción se caracteriza por producir una mayor agresividad y un incremento más rápido de la enfermedad (Meena *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2017; Khan y Sharma, 2020).

La caracterización de aislados del hongo *F. oxysporum* tradicionalmente se ha realizado en base a sus características morfológicas y fenotípicas. No obstante, se ha determinado que los aislados pueden llegar a ser indistinguibles basados únicamente en sus características morfológicas. Así, aislados que pertenecen a una raza particular o una forma especializada del hongo o *forma specialis* (abreviación. f. sp.) no se podrían distinguir de aquellos aislados no patógenos (Boix-Ruíz *et al.*, 2015).



Figura 1. Síntomas del ataque de *F. oxysporum* en naranjilla. A: clorosis en las hojas. B: flacidez generalizada de toda la planta. C y D: daños en el sistema vascular presente en el tallo y raíz (Fuente: Reyna, 2021).

Dentro de los planes de diagnóstico y manejo de una determinada enfermedad en la actualidad, es necesario identificar adecuadamente la raza o forma especializada del agente causal (Leslie y Summerell, 2006; Gao y Zhang, 2013). Para el caso de las solanáceas, no existen al día de hoy condiciones estandarizadas que aseguren la identificación de una raza o forma especializada de *F. oxysporum* en base a características morfológicas, por lo que el uso de técnicas moleculares se considera una importante herramienta complementaria para identificar el agente causal de una enfermedad.

En la identificación de formas especializadas y razas de *F. oxysporum* se ha empleado varios métodos moleculares como RAPD (*Random amplification of polymorphic DNA*), ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) y RFLP-IGS (*Restriction fragment length polymorphism of intergenic spacers*) (Çolak y Biçici; 2013; Oliveira *et al.*, 2013). Sin embargo, actualmente se utilizan principalmente dos técnicas: RFLP y PCR. Estas técnicas requieren cebadores específicos para cada forma especial o razas y se basan en la detección de un conjunto de pares de bases que están presentes solo en esa f. sp (Boix-Ruíz *et al.*, 2015).

Por ejemplo, con el uso de marcadores moleculares se ha detectado que que la f. sp. *lycopersici* (raza Fol) de *F. oxysporum* segrega varias proteínas únicas, llamadas proteínas “secretadas en el xilema” (Six) durante el proceso infeccioso (Boix-Ruíz *et al.*, 2015). Lievens *et al.* (2009b) utilizaron varias proteínas Six para la identificación de formas especializada y razas de *F. oxysporum* basados en genes de virulencia específicos del huésped. Sus resultados experimentales permitieron el desarrollo de marcadores específicos para estas proteínas, y sus estudios han demostrado que la presencia de la proteína SIX1 puede utilizarse para la identificación inequívoca de la forma *specialis lycopersici*. Además, SIX4 se puede utilizar para la identificación de cepas de la raza 1, mientras que los polimorfismos en SIX3 se pueden aprovechar para diferenciar las cepas de la raza 2 de la raza 3 infeccioso (Boix-Ruíz *et al.*, 2015).

También se ha desarrollado un método PCR con cebadores específicos, basado en los polimorfismos en dos genes que codifican enzimas que degradan la pared celular (endopoligalacturonasa y exopoligalacturonasa), para distinguir aislados japoneses de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) (Hirano y Arie, 2006).

Virosis

Las enfermedades causadas por virus en la naranjilla causan pérdidas económicas importantes. Pueden presentar en la naranjilla síntomas como enanismo, amarillamiento, mosaico, enrollamientos de los bordes (Vaca *et al.*, 1999).

En Colombia, se ha detectado la presencia de potivirus en muestras recolectadas en localidades del Departamento de Cundinamarca con la aplicación de dos metodologías: análisis de ARN de doble cadena (dsRNA) y ensayos de RT-PCR empleando cebadores específicos. Se detectó la presencia de potivirus en algunas de las muestras estudiadas, sin embargo, no se encontró correlación entre su aparición y el desarrollo de sintomatología (Vaca *et al.*, 1999).

También se ha determinado la presencia de tres virus de ARN en la naranjilla: el *Cucumber mosaic virus* (CMV), el *Potato yellow vein virus* (PYVV); y el *Alstroemeria necrotic streak virus* (ANSV) con plantas cuyos síntomas incluyen amarillamientos intervenales, mosaicos en las hojas y deformación de brotes. Los tres virus en naranjilla fueron determinados mediante pruebas de RT-PCR y secuenciación Sanger con cebadores específicos diseñados a partir de los datos de NGS (ANSV y CMV), o con cebadores reportados previamente (PYVV) (Gallo *et al.*, 2018).

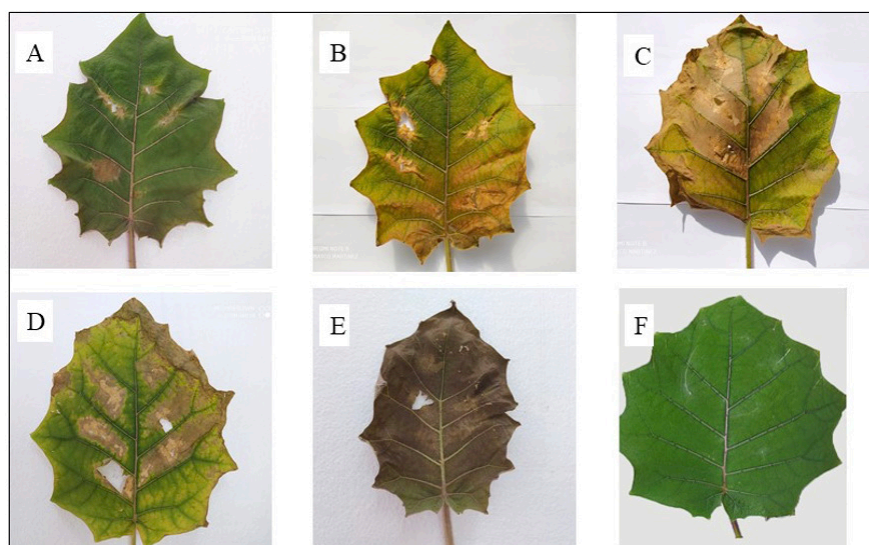


Figura 2. Síntomas inducidos por aislados virales de naranjilla en plantas de *S. quitoense*. A: arrugamientos moderados. B: anillos cloróticos y clorosis intervenal. C: clorosis y enrollamiento de la hoja. D: mosaicos. E: necrosamiento de tejido del ápice de los brotes nuevos. (Fuente: Martínez, 2021).

En Ecuador se ha reportado que diferentes especies de virus causan síntomas en la naranjilla. (Green *et al.*, 2017) reportaron en el cultivar híbrido puyo la primera especie de virus en naranjilla ubicada en la familia Tymoviridae, a la que denominaron como “Naranjilla chlorotic mosaic virus” (NarCMV). El virus produjo mosaico, retraso en el crecimiento, manchas cloróticas en las hojas superiores, necrosis y senescencia, dejando una superficie de hoja perforada. Además, este virus infecta a otras especies de solanaceas como: *N. benthamiana*, berenjena, tomate de árbol, pimiento, con síntomas similares a los mostrados en naranjilla. El genoma entero de 6245 nucleótidos fue amplificado usando RT-PCR y secuenciado utilizando usando la metodología Sanger. Se encontró que el genoma tenía tres ORF típico de los tymovirus. Cornejo-Franco *et al.* (2019) reportaron en el norte de Ecuador un virus que se presenta con mosaicos moderados en naranjilla, al cual lo denominaron como “Naranjilla mild mosaic virus” (NarMMV) usando RT-PCR y el cual fue secuenciado usando la metodología Sanger.

Nematodos

Los nematodos son parásitos que infectan las raíces de las plantas e inducen la formación de células gigantes de alimentación que conducen a una disminución en la nutrición de las plantas y la absorción de agua. Constituyen un grupo importante de patógenos y causan una pérdida de rendimiento del 7 al 15% en los cultivos agrícolas. Como consecuencia, las plantas pueden mostrar varios síntomas como marchitamiento, retraso del crecimiento, y con rendimientos considerablemente reducidos (Barbary *et al.*, 2015; El-Sappah *et al.*, 2019).

Los nematodos, además de causar daño directo a las plantas, también poseen la capacidad de sinergizarse con otros patógenos que conducen al desarrollo del complejo patológico. La invasión de nematodos puede aumentar la gravedad de enfermedades fúngicas o bacterianas. Los complejos de enfermedades de Fusarium-nematodos que involucran nematodos agalladores, *Meloidogyne* spp. son muy frecuentes y muy dañinos para los cultivos (Khan & Sharma, 2020).

En el caso de la naranjilla, frente a estos problemas de enfermedades que incluyen a los nematodos es común entre los agricultores la práctica de utilizar la tierra para el cultivo de naranjilla mientras su productividad es alta, y cuando esta desciende después de unos años debido a la presencia de enfermedades convertirla la tierra en pastos (Grijalva, 2005). Los nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp.) son las plagas de nematodos más importantes del mundo, tanto debido a su amplia distribución y al elevado número de familias y especies de plantas que se ven afectadas, siendo el caso de los cultivos frutales comerciales en Ecuador como la naranjilla. En naranjilla, los fitonematodos del género *Meloidogyne* son los de mayor frecuencia y distribución. Estos causan daño mecánico permitiendo la llegada de otros patógenos y cuya sintomatología en la parte aérea de la planta se observan como marchitez generalizada (Gelpud *et al.*, 2011).

Dennis *et al.* (1985) señalan que las plantas a menudo disminuyen después de dos o tres años de producción, más debido a las plagas que al verdadero envejecimiento de la planta y que el injerto de naranjilla en patrones resistentes a los nematodos podría aumentar la longevidad y la productividad de la planta. El deterioro de la planta es progresivo, se observan hojas cloróticas, defoliación y marchitez, reducción del tamaño de frutos y del periodo de producción, finalmente las plántulas mueren. Lo anterior se relaciona con la reducción en la absorción de nutrientes por el deterioro del sistema radical inducido por las agallas que provoca *Meloidogyne* spp. (Mosquera-Espinoza, 2016). El control de nematodos se hace generalmente con productos químicos, pero estos no son deseables para su uso en la agricultura debido a sus altos costos y efectos peligrosos sobre la salud humana y el medio ambiente, pues reducen la biodiversidad del ecosistema (Castro *et al.*, 2011).



Figura 3. Raíces de naranjilla que presentan deformaciones y agallas debido a la presencia de *Meloidogyne incognita*. (Fuente: Pacheco, 2019).

Dentro del campo de la biología molecular no existen muchos estudios acerca de las interacciones entre la naranjilla y los nematodos de agallas. Se han utilizado cebadores específicos MI-F y MI-R para amplificar segmentos de ADN para confirmar a *M. incognita* como la especie responsable del ataque a la naranjilla u otras solanáceas (Navarrete *et al.*, 2018; Martínez *et al.*, 2019).

Se han probado especies de solanáceas aparentadas a la naranjilla como *S. hirtum*, las cuales al ser evaluadas mostraron nudos en las raíces, síntoma característico de cultivos afectados por nematodos del género *Meloidogyne*, pero que presentaron valores para el factor de reproducción inferior a *S. quitoense*, y por lo tanto una respuesta de tolerancia (Navarrete *et al.*, 2018).

Uso de marcadores moleculares en mejoramiento genético en naranjilla

La naranjilla presenta escasa variabilidad genética. Una de las colecciones más grandes de germoplasma de naranjilla se encuentra en Colombia (CORPOICA) (Ramírez *et al.*, 2018). Esta colección ha sido analizada mediante marcadores AFLP y COSII (Fory Sánchez *et al.*, 2010; Bedoya-Reina y Barrero, 2010; Enciso-Rodríguez *et al.*, 2010). Fory Sánchez *et al.* (2010) examinaron los polimorfismos genéticos de la colección y afinidades interespecíficas utilizando marcadores AFLP. Se observó una variabilidad genética más amplia dentro de la sección silvestre de *Lasiocarpa* que en las especies cultivadas *S. quitoense* y *S. sessiliflorum*. También se observó que los híbridos interespecíficos entre *S. hirtum* y *S. quitoense* mostraron una mayor variabilidad genética en contraste con *S. quitoense*.

Bedoya-Reina y Barrero (2010) evaluaron la diversidad de secuencia relativa entre la naranjilla y su pariente silvestre *S. hirtum*, mediante el uso de marcadores COSII. La diversidad de la naranjilla cultivada fue considerablemente menor que la de su pariente silvestre. Algunos genes asociados con resistencia a patógenos y estrés abiótico con alta variabilidad genética se han visto favorecidos tanto en plantas de naranjilla cultivadas como silvestres. Además, Enciso-Rodríguez *et al.* (2010) caracterizaron genéticamente 62 accesiones de naranjilla mediante marcadores basados en PCR desarrollados a partir de genes ortólogos conservados de copia única (COSII) de especies de Solanaceae (Asterid). Encontraron seis marcadores COSII polimórficos para naranjilla con 47 alelos. El análisis genético proporcionó evidencia que indica una alta estructura poblacional, lo que podría ser el resultado de una baja migración entre poblaciones, la adaptación de nichos y la cantidad de marcadores analizados.

En Ecuador, con el fin de obtener materiales con mejores características de productibilidad y resistencia a las principales plagas y enfermedades desde el 2005 el Programa Nacional de Fruticultura del INIAP ha generado una población segregante proveniente de cruzamientos interespecíficos entre *S. quitoense* con solanáceas silvestres. El mejoramiento genético en el cultivo de naranjilla se ha apoyado en la observación tanto morfológica como fisiológica. Hasta el momento estudios realizados han demostrado que miembros de la sección Lasiocarpa como *Solanum vestissimum* y *Solanum hirtum* presentan diversos grados de resistencia a *M. incognita* y a *F. oxysporum* (Ramírez *et al*, 2018).

Estudios de la resistencia genética en la sección Lasiocarpa del género *Solanum* del banco de germoplasma del INIAP, muestran que accesiones especialmente de *Solanum hirtum* presentan una resistencia parcial a estos patógenos. La producción y uso de variedades o híbridos resistentes presentan ciertas desventajas como: la producción de semillas estériles. Además, los segregantes de estas cruas no son totalmente resistentes a enfermedades, especialmente a la marchitez causada por *F. oxysporum*, lo que demuestra que el mejoramiento convencional en la naranjilla no ha solucionado los problemas de su cultivo y producción (Ramírez *et al*, 2018).

Perspectivas

En los últimos años, el uso de marcadores moleculares ha permitido la identificación de los agentes causales de plagas y enfermedades en el cultivo de naranjilla, con una mayor precisión, ya que en ciertos casos la identificación basada en características morfológicas o daños causados es muy difícil de realizar. Con los avances en el área de la biotecnología vegetal, como el uso de marcadores moleculares se abre la posibilidad de incorporar características deseables en el cultivo de naranjilla, aprovechando la diversidad, para conseguir un mejoramiento dirigido a satisfacer las necesidades específicas de los agricultores y consumidores. Es necesario recalcar que, dentro de un plan integral de manejo de la naranjilla, la resistencia genética es la estrategia más eficiente para el control de enfermedades y el mejoramiento de la calidad de la fruta en suelos donde están presentes tanto *F. oxysporum* como *M. incognita*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Dirección de Investigaciones de la Universidad de Cuenca (DIUC) por el financiamiento para realizar este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alwang, J., Suárez, C. y Barrera, V. (2002). *Overview of the South American site in Ecuador*. Blacksburg, VA: Integrated Pest Management Collaborative Research Support Program.
- Barbary, A., Djian-Caporalino, C., Palloix, A. y Castagnone-Sereno, P. (2015). Host genetic resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in Solanaceae: from genes to the field. *Pest Management Science*, 71(12), 1591–1598. <https://doi.org/10.1002/ps.4091>.
- Bedoya-Reina, O.C. y Barrero, L.S. (2010). Preliminary assessment of COSII gene diversity in lulo and a relative species: Initial identification of genes potentially associated with domestication. *Gene*, 458(1), 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2010.03.005>.
- Boix-Ruíz, A., Gálvez-Patón, L., de Cara-García, M., Palmero-Llamas, D., Camacho-Ferre, F. y Tello-Marquina, J.C. (2015). Comparison of analytical techniques used to identify tomato-pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*, 43(4), 471–483. <https://doi.org/10.1007/s12600-014-0444-z>.

- Chong, L., y Andrade, F. (2001). *Exportación de naranjilla en conserva hacia los Estados Unidos y sus efectos en la economía ecuatoriana*. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/3519/1/6046.pdf>
- Clements, C., Alwang, J., Barrera, V. y Dominguez, J.M. (2017). Graft is good: the economic and environmental benefits of grafted naranjilla in the Andean region. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 32(4), 306–318. <https://doi.org/10.1017/S174217051600020X>.
- Çolak, A. y Biçici, M. (2013). PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. radicis-lycopersici and races of *F. oxysporum* f. sp. lycopersici of tomato in protected tomato-growing areas of the eastern Mediterranean region of Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37, 457–467. <https://doi.org/10.3906/tar-1203-71>.
- Cornejo-Franco, J.F., Alvarez-Quinto, R.A., Grinstead, S., Mollov, D., Karasev, A.V, Ochoa, J. y Quito-Avila, D.F. (2019). A new tymovirus isolated from *Solanum quitoense*: characterization and prevalence in two solanaceous crops in Ecuador. *Plant Disease*, 103(9), 2246–2251. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0113-RE>.
- Council, N.R. (1989). *Lost crops of the Incas: little-known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/1398>.
- Dennis, F.G., Herner, R.C. y Camacho, S. (1985). Naranjilla: A potential cash crop for the small farmer in Latin America. *Acta Horticulturae*, 158, 475–481. <http://doi.org/10.17660/ActaHortic.1985.158.55>.
- El-Sappah, A.H., Islam, M.M., El-awady, H. H., Yan, S., Qi, S., Liu, J. y Liang, Y. (2019). Tomato natural resistance genes in controlling the root-knot nematode. *Genes*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/genes10110925>.
- Enciso-Rodríguez, F., Martínez, R., Lobo, M. y Barrero, L.S. (2010). Genetic variation in the Solanaceae fruit bearing species lulo and tree tomato revealed by Conserved Ortholog (COSII) markers. *Genetics and Molecular Biology*, 33(2), 271-278. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572010005000016>.
- Fory Sánchez, P.A., Sánchez Mosquera, I., Bohórquez Cháux, A., Ramírez, H., Medina Cano, C.I. y Lobo Arias, M. (2010). Genetic variability of the colombian collection of lulo (*Solanum quitoense* Lam.) and related species of section Lasiocarpa. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 63(2), 5465-5476. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179918602001>.
- Gallo, Y., Toro, L.F., Jaramillo, H., Gutiérrez, P.A. y Marín, M. (2018). Identificación y caracterización molecular del genoma completo de tres virus en cultivos de lulo (*Solanum quitoense*) de Antioquia (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 12(2). <https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i2.7692>.
- Gancel, A.L., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Ruales, J. y Vaillant, F. (2008). Identifying carotenoids and phenolic compounds in naranjilla (*Solanum quitoense* Lam. Var. Puyo Hybrid), an andean fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(24), 11890–11899. <https://doi.org/10.1021/jf801515p>.
- Gao, R. y Zhang, G. (2013). Potential of DNA barcoding for detecting quarantine fungi. *Phytopathology*, 103, 1103–1107. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-12-12-0321-R>.
- Gelpud, C., Mora, E., Salazar, C. y Betancourth, C. (2011). Susceptibilidad de genotipos de *Solanum* spp. al nematodo causante del nudo radical *Meloidogyne* spp. (Chitwood). *Acta Agronómica*, 60(1), 50-67. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169922363005>.
- Green, K.J., Mollov, D., Tran, L.T., Alvarez-Quinto, R.A., Ochoa, J.B., Quito-Avila, D.F. y Karasev, A.V. (2017). Characterization of a new tymovirus causing stunting and chlorotic mosaic in naranjilla (*Solanum quitoense*). *Plant Disease*, 102(5), 911–918. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1534-RE>.

- Grijalva, J. (2005). *Expansion of Livestock in the Amazon and its Impact on Deforestation in the Ecuadorian Context* [dissertation]. Paris France: Institut National Agronomique de Paris-Grignon, National Agronomic University of Paris-Grignon.
- Heiser, C.B. (1993). The naranjilla (*Solanum quitoense*), the cocona (*Solanum sessiliflorum*) and their hybrid. En: *Gene Conservation and Exploitation*. Gustafson J.P., Appels R., Raven P. (eds). Stadler Genetics Symposia Series. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1136-0_3.
- Hirano, Y. y Arie, T. (2006). PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici and radicislycopersici and races of *F. oxysporum* f. sp. lycopersici. *Journal of General Plant Pathology*, 72, 273–283. <https://doi.org/10.1007/s10327-006-0287-7>.
- Khan, M.R. y Sharma, R.K. (2020). Fusarium-nematode wilt disease complexes, etiology and mechanism of development. *Indian Phytopathology*, 73(4), 615–628. <https://doi.org/10.1007/s42360-020-00240-z>.
- Kumar, N., Bhatt, J. y Sharma, R. (2017). Interaction between *Meloidogyne incognita* with *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici on tomato. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 1770–1776. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.608.209>.
- Lim, T.K. (2013). *Solanum lasiocarpum* BT - Edible medicinal and non-medicinal plants: Volume 6, Fruits. In T. K. Lim (Ed.) (pp. 333–335). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5628-1_39.
- Leslie, J.F. y Summerell, B.A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing.
- Lievens, B., Van Baarlen, P., Verreth, C., Van Kerckhove, S., Rep, M. y Thomma, B.P. (2009b). Evolutionary relationships between *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici and *F. oxysporum* f. sp. radicislycopersici isolates inferred from mating type, elongation factor-1a and exopolygalacturonase sequences. *Mycological Research*, 113, 1181–1191. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.07.019>.
- Navarrete, X., Ron, L., Viteri, P., y Viera, W. (2018). Parasitism of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) chitwood in five wild Solanaceae species. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 71, 8367–8373. <https://doi.org/10.15446/rfna.v71n1.67122>.
- Martínez-Gallardo, J.A., Díaz-Valdés, T., Allende-Molar, R. y Retes-Manjarrez, J.E., Carrillo-Fasio, J.A. (2019). Identificación y distribución de *Meloidogyne* spp. en tomate de Sinaloa México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10, 453–459. <http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v10i2.392>.
- Martínez, M. (2021). *Identificación molecular y caracterización de síntomas de aislados virales de naranjilla en 3 especies de la sección Lasiocarpa (S. quitoense, S. hirtum y S. sessiliflorum)*. Tesis Ing. Agr. Universidad de Cuenca.
- Meena, K., Ramyabharathi, S.A., Raguchander, T. y Jonathan, E.I. (2016). Interaction of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* in carnation and physiological changes induced in plants due to the interaction. *SAARC Journal of Agriculture*, 14(1). <https://doi.org/10.3329/sja.v14i1.29576>.
- Mosquera-Espinosa, A.T. (2016). Fitonematodos asociados a *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn., *Solanum quitoense* Lam. y *Daucus carota* L. en el Departamento de Boyacá, Colombia. *Acta Agronómica*, 65, 87–97. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n1.45180>.
- Oliveira, D., Alves, C.M., Barbosa, C., Ribeiro, M. L., Santos, M T., Menezes, V.L., et al. (2013). Identification of races 1, 2 and 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici by molecular markers. *African Journal of Microbiological Research*, 7, 2324–2331. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.2234>

- Pacheco, L. (2019). *Determinación de la resistencia a Meloidogyne incognita, en tres especies de la sección Lasiocarpa: Solanum quitoense, Solanum hirtum y Solanum sp.* Tesis Ing. Agr. Universidad de Cuenca.
- Pratt, R.C., Francis D.M. y Meneses L.S.B. (2008). Genomics of tropical solanaceous species: established and emerging crops. En: Genomics of Tropical Crop Plants. Moore P.H., Ming R. (eds), New York: *Plant Genetics and Genomics: Crops and Models, vol 1*. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71219-2_19.
- Ramírez, F., Kallarackal, J., & Davenport, T. L. (2018). Lulo (*Solanum quitoense* Lam.) reproductive physiology: A review. *Scientia Horticulturae*, 238, 163–176. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.046>.
- Reyna, E. (2021). *Evaluación de la resistencia a la interacción entre Meloidogyne incognita y Fusarium oxysporum en dos especies de la sección Lasiocarpa: Solanum hirtum y Solanum sp.* Tesis Ing. Agr. Universidad de Cuenca.
- Sowell, A. y Shively, G. (2012). Economic and environmental impacts of grafted naranjilla. *Forests, Trees and Livelihoods*, 21(1), 30–43. <https://doi.org/10.1080/14728028.2012.669133>.
- Vaca, J., Torres, I., Peñaranda, J., & Aristizábal, F. (1999). Identificación de potivirus presentes en plantas de lulo (*Solanum quitoense* Lam). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2(2), 9–15. Retrieved from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/30046>.
- Whalen, M.D. y Caruso, E.E. (1983). Phylogeny in Solanum sect. Lasiocarpa (Solanaceae): Congruence of Morphological and Molecular Data. *Systematic Botany*, 8(4), 369–380. <https://doi.org/10.2307/2418356>.