

Los cambios climáticos que acontecen en nuestro planeta, las redes comerciales que interconectan los mercados globalmente y el modelo de agricultura intensiva instaurado en las últimas décadas, favorecen la emergencia de nuevas virosis en los cultivos del sudeste español, principal región abastecedora de frutas y hortalizas al resto de países europeos. Entre las virosis emergentes más recientes en esta área de cultivo, se encuentra un nuevo aislado del *tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV), un begomovirus de genoma bipartito transmitido por moscas blancas (*Bemisia tabaci*). En 2012 se detectó por primera vez en las provincias de Murcia y Almería, y desde entonces se está propagando por otros países de la cuenca del Mediterráneo, generando graves daños en los cultivos de cucurbitáceas, y limitando la producción, principalmente, de calabacín (*Cucurbita pepo*) y melón (*Cucumis melo*). Entre las estrategias para controlar la enfermedad y disminuir su incidencia, el empleo de resistencias genéticas ofrece un elevado nivel de protección para los cultivos de manera durable y eficiente. En esta tesis doctoral se ha desarrollado un programa de mejora genética enfocado a la obtención de variedades de cucurbitáceas resistentes al aislado español del ToLCNDV(-ES).

En esta tesis doctoral se han identificado por primera vez fuentes de resistencia al ToLCNDV en el género *Cucurbita* y en pepino (*Cucumis sativus*), aunque el germoplasma con genes de resistencias al virus es escaso y localizado en pocas accesiones. Todas las accesiones resistentes que describimos pertenecen a tipos silvestres o variedades locales, en las que el nivel de domesticación o manipulación genética es reducido. Además, la mayor parte de estos genotipos son originarios de la India, donde se describió por primera vez el ToLCNDV. Es posible que en esta área se haya producido un fenómeno de co-evolución entre plantas silvestres de cucurbitáceas y este begomovirus.

Aunque no hemos identificado fuentes de resistencia en calabacín, dos accesiones de *Cucurbita moschata* sí han mostrado un elevado nivel de resistencia, y a pesar de la cruzabilidad intermedia que presentan ambas especies, ha sido posible la obtención de descendencia interespecífica y la transferencia parcial de la resistencia. Las accesiones resistentes identificadas en los trabajos de esta tesis y las identificadas por nuestro grupo en ensayos previos, se han caracterizado para determinar el tipo de herencia que regula la resistencia al ToLCNDV.

Mediante el desarrollo de poblaciones segregantes de mejora y el aprovechamiento de herramientas genéticas de mapeo y cartografía hemos identificado tres QTLs que controlan la resistencia al ToLCNDV en melón, uno de efecto mayor y herencia

parcialmente dominante en el cromosoma 11 y dos que modifican su efecto mediante interacciones epistáticas en los cromosomas 2 y 12. Siguiendo esta estrategia, también hemos identificado un *locus* de resistencia recesiva a ToLCNDV en el cromosoma 8 de *C. moschata*, aunque la penetración incompleta cuando se intenta transferir a *C. pepo* pone de manifiesto la influencia del fondo genético en el carácter. Las regiones genómicas involucradas en la resistencia de ambas especies son sinténicas y agrupan un conjunto de genes comunes no descritos previamente en la resistencia a otros virus en cucurbitáceas.

Los avances en el desarrollo de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva han puesto a nuestro alcance una gran cantidad de información genómica y transcriptómica. Los genotipados mediante colecciones de SNPs han permitido identificar marcadores moleculares ligados a la resistencia al ToLCNDV en melón, calabaza y calabacín. Estos marcadores suponen un valioso recurso en programas de mejora, ya que permiten transferir de manera asistida las resistencias identificadas a fondos genéticos comerciales.

Para profundizar en el conocimiento de los mecanismos moleculares que dan lugar a la resistencia, hemos llevado a cabo un ensayo de secuenciación del RNA (RNA-seq), para comparar los transcriptomas de un genotipo resistente y otro susceptible de melón durante la infección con ToLCNDV. Los resultados obtenidos al analizar la expresión diferencial son compatibles con el tipo de herencia cuantitativa de la resistencia y reflejan un complejo sistema de regulación transcripcional.

Aunque inicialmente el virus puede replicarse en la accesión resistente de melón, la desregulación de genes implicados en la ruta de señalización hormonal del ácido jasmónico, transportadores transmembrana, fotosíntesis y factores de transcripción, reduce la infección sistémica en la planta. Además, hemos observado cambios en la expresión de genes implicados en la metilación del DNA, tanto en el genotipo resistente como susceptible, lo que sugiere que el silenciamiento génico mediado por RNA puede estar involucrado en la inhibición de la transcripción del genoma viral, favoreciendo la resistencia.