

CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA Y EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA AL TYLCV EN NUEVOS GENOTIPOS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) COMO APOYO AL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LA HORTALIZA PARA LA ENFERMEDAD

F. Dueñas[✉], Yamila Martínez, Marta Álvarez, C. Moya, Belkis Peteira, Yailén Arias, María J. Diez, P. Hanson y T. Shagarodsky

ABSTRACT. One of the major viral pathogens of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) crop in Cuba and many other countries is the tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), a Begomovirus from *Geminiviridae* family, which are transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.). At present, plant breeding for disease resistance or tolerance constitutes one of the most promising ways to reduce damages caused by this virus, since most existing tomato seedlings are susceptible to it. This study evaluated the agromorphological characteristics and resistance to TYLCV of eight tomato genotypes introduced in our country. From the agromorphologic viewpoint, a phenotypical variability was detected in all materials evaluated. Except the susceptible control, every accession was asymptomatic to the virus; however, viral concentrations were recorded just in some sampled plants of these accessions.

Key words: tomato, biodiversity, tomato yellow leaf curl geminivirus, disease resistance

RESUMEN. Uno de los mayores patógenos virales del cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Cuba y en varios países del mundo es el virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV), Begomovirus de la familia *Geminiviridae*, que es transmitido por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Genn.). Actualmente, el mejoramiento genético para la resistencia o tolerancia a la enfermedad constituye una de las vías más promisorias para reducir los daños provocados por la virosis en el cultivo, pues se conoce que gran parte de los cultivares de tomate existentes son susceptibles. En este trabajo se evaluaron las características agromorfológicas y resistencia al TYLCV de ocho genotipos de tomate introducidos en el país. Se detectó, desde el punto de vista agromorfológico, variabilidad fenotípica en todos los materiales evaluados. A excepción del control susceptible, las accesiones caracterizadas fueron asintomáticas ante el virus, aunque se registraron concentraciones virales en pocas plantas muestreadas de algunas de las accesiones vegetales.

Palabras clave: tomate, biodiversidad, geminivirus rizado amarillo tomate, resistencia a la enfermedad

INTRODUCCIÓN

Los recursos fitogenéticos constituyen un acervo genético importante a manejar y explotar, de manera racional, en la búsqueda de genes relacionados con la re-

sistencia a los factores bióticos y abióticos que afectan a las especies cultivadas por el hombre. En el género *Solanum* spp., son numerosas las accesiones de especies silvestres empleadas en la introgresión de genes de resistencia a factores estresantes, que dificultan el desarrollo de las especies cultivadas (1, 2).

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) constituye una de las principales hortalizas a nivel mundial después de la papa (*Solanum tuberosum* L.) y en Cuba sus frutos gozan de gran aceptación en la población, ya sea para ser consumidos en fresco o como condimentos (3, 4, 5).

A pesar de su importancia, la explotación comercial del cultivo afronta numerosas dificultades en países de las regiones productoras del mundo, debido a la susceptibilidad que presentan las variedades comerciales a plagas y enfermedades de origen viral, fúngico y bacteriano (5).

El virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) es un geminivirus transmitido por la

Ms.C. F. Dueñas, Investigador, Dra.C. Marta Álvarez y Dr.C. C. Moya, Investigadores Titulares del Departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Gaveta Postal 1, San José de las Lajas; Dra. C. Yamila Martínez, Investigadora Titular, Dra.C. Belkis Peteira, Investigadora Auxiliar y Yailén Arias, Reserva Científica del Departamento de Fitopatología, División de Protección de Plantas, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32700; Dra. María J. Diez, Profesora Titular del Centro de Conservación y Mejora de la Agrobiodiversidad Valenciana (COMAV), Universidad Politécnica de Valencia, España; Dr. P. Hanson, Investigador de Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC), Taiwán; Ms.C. T. Shagarodski, Investigador del Instituto de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT), Cuba.

✉ franko@inca.edu.cu

mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) (6) y una de las mayores enfermedades del cultivo a nivel tropical y subtropical del planeta, que abarca países de los cinco continentes (7, 8). Sus pérdidas son valoradas hasta en un 100 % del rendimiento total, con un completo abandono del cultivo por los productores (9).

En Cuba, se detectó por primera vez la presencia de este virus en plantaciones de tomate a partir de 1987 y en la década del 90 su presencia se hizo notar en todas las regiones muestreadas de la isla (10). La etiología geminiviral de la enfermedad quedó demostrada a través de la caracterización molecular (11), la cual detectó un elevado nivel de similitud entre el aislado circulante del virus en la isla y el aislado presente en Israel.

Actualmente se cuenta en el país con una variedad, Vyta, resistente al complejo mosca blanca-geminivirus, obtenida por la selección continua y rigurosa desarrollada en poblaciones segregantes de especies cultivadas y silvestres de *S. chilense* (accesión LA 1969) x *S. esculentum* (12), la cual resulta insuficiente su explotación para apalejar los efectos devastadores de la enfermedad, pues se ha descrito la presencia de síntomas ligeros en regiones donde es cultivada (13).

A pesar de los avances palpables que existen en los programas de mejora para la enfermedad, a nivel internacional se continúa en la búsqueda de nuevas fuentes de resistencia genética que superen las encontradas (14), orientada hacia las especies silvestres del género (1, 15). En la actualidad, se han descrito mecanismos anatómicos-fisiológicos y genéticos involucrados en la resistencia y/o tolerancia al virus. Los primeros se relacionan con respuestas evasivas de la planta al vector, a través de secreciones glandulares que presentan algunas accesiones silvestres relacionadas con la presencia de tricomas del tipo VI y VII (16, 17). Los genéticos han sido los más empleados, los cuales están determinados por genes como *Ty-1* (18), *Ty-2* (19) o poligenes y más recientemente el gen *Ty-3*, detectado en una accesión de la especie silvestre *S. chilense* (1, 14), todos involucrados en la resistencia y/o tolerancia a geminivirus.

Teniendo en cuenta las tendencias actuales de la mejora para la enfermedad a nivel mundial, el contar solo con una variedad resistente para el complejo mosca blanca-geminivirus portadora del gen *Ty-1* en Cuba y la disponibilidad existente, a nivel internacional, de nuevos mate-

riales genéticos portadores de otros genes y/o mecanismos de resistencia, resultaría interesante introducir otros genotipos resistentes a la enfermedad, caracterizarlos y utilizarlos en los nuevos programas de mejora genética para *TYLCV* en el archipiélago.

En relación con los antecedentes enunciados y contando con nuevas accesiones introducidas, resistentes a otros aislados de *TYLCV*, se describen los objetivos fundamentales de la presente investigación, los cuales están relacionados con la caracterización agromorfológica de los nuevos materiales vegetales resistentes a otros linajes del *TYLCV* y el análisis de su comportamiento ante el aislado viral circulante en Cuba, en condiciones de infección no controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal empleado en la investigación fueron accesiones descritas como resistentes a aislados virales de *TYLCV* (Tabla I), donadas por el Centro de Conservación y Mejora de la Agrobiodiversidad Valenciana (COMAV) de la Universidad Politécnica de Valencia, España; el *Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC)* de Taiwán y el Instituto de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT) de Cuba.

Los experimentos fueron efectuados en el período de siembra óptimo para el cultivo (4), durante la campaña de invierno (octubre, 2006-enero, 2007). Las evaluaciones se realizaron atendiendo al diseño de estos, los cuales se describen a continuación.

Evaluación agromorfológica de los materiales vegetales. Se emplearon 10 plantas por accesión, las cuales se sembraron en un diseño completamente aleatorizado, en canteros de asbesto cemento al aire libre que contenían una mezcla de suelo Ferralítico Rojo compactado (Ferralsol éutrico), según la Nueva Clasificación Genética de los Suelos de Cuba (20) y cachaza en proporción 3:1, empleándose una distancia de plantación de 0,90 x 0,25 m.

Para la caracterización agromorfológica se utilizó un total de 20 caracteres; de ellos 15 cualitativos y cinco cuantitativos del Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (Tabla II), relacionados con los descriptores de la planta y el fruto (21).

Tabla I. Accesiones vegetales utilizadas, fuentes de procedencias y donantes

Genotipos	Genes que presenta	Fuente de procedencia (país)	Especie silvestre de donde proviene	Referencia	Donante
Vyta	Ty-1	Cuba	<i>S. chilense</i>	11	INCA
PIMHIR	-	Francia	<i>S. pimpinellifolium</i>	-	COMAV
Mex -121 A	-	México	<i>S. pimpinellifolium</i>	22	INIFAT
TY-197	-	Israel	<i>S. peruvianum</i>	23	COMAV
H 24	Ty-2	India	<i>S. habrochaites</i>	24	AVRDC
TY-1	Ty-1	Estados Unidos	<i>S. chilense</i>	-	COMAV
CLN2116B	Ty-2	Taiwan	<i>S. habrochaites</i>	25	AVRDC
Campbell 28	-	Estados Unidos	-	-	INCA

Tabla II. Caracteres cualitativos y cuantitativos utilizados en la evaluación agromorfológica de los materiales

Caracteres cualitativos	Nomenclatura	Caracteres cuantitativos	Nomenclatura
Color de hipocótilo	CH	Peso del fruto (g)	PF
Tipo de crecimiento	TC	Diámetro polar del fruto (mm)	DPF
Densidad del follaje	DF	Diámetro ecuatorial del fruto (mm)	DEF
Posición de la hoja	PH	Número de lóculos	NL
Tipo de hoja	TH	Número de frutos del segundo racimo	NFSR
Tipo de inflorescencia	TI		
Color exterior del fruto	CEF		
Hombros en el fruto	HF		
Intensidad del hombro	IH		
Forma del fruto	FF		
Color exterior del fruto maduro	CEFM		
Forma del hombro del fruto	FHF		
Forma del corte transversal del fruto	FCTF		
Forma de la cicatriz del pistilo	FCP		
Forma del terminal de la floración del fruto	FTFF		

A los resultados relacionados con los caracteres cuantitativos se les comprobó el cumplimiento de las premisas necesarias del diseño experimental empleado y se realizó un ANOVA de clasificación simple, utilizándose para la interpretación de estos resultados la prueba de Rangos Múltiples de Duncan para un 5 % de significación estadística.

Para una mejor interpretación e integración de los resultados de los caracteres evaluados, se realizó un análisis de agrupamiento (Conglomerados Jerárquicos) a partir de una matriz de distancias Euclidianas, donde las determinaciones cualitativas y cuantitativas fueron estandarizadas (26), para garantizar que todas las variables tuvieran el mismo peso estadístico. De esta forma, los caracteres cualitativos codificados en forma binaria se les asignaron valores de 0 y 1, donde generalmente el cero coincidió con la ausencia del carácter y 1 con la presencia; se codificaron los caracteres cualitativos que suponen diversos grados de expresión, dando el valor cero al menor grado de expresión, uno al mayor y valores fraccionarios a los grados intermedios. Por último, los caracteres cuantitativos fueron tratados de forma similar, con puntuación de cero al valor mínimo y uno al máximo, siendo los valores intermedios codificados utilizando la siguiente fórmula: $V(0-1) = (V(\text{real}) - V(\text{mínimo})) / (\text{Rango})$, donde: $V(0-1)$ es el nuevo valor comprendido entre 0-1; $V(\text{real})$ y $V(\text{mínimo})$ son los valores del carácter cuantitativo y su valor mínimo, respectivamente. El carácter forma del fruto se evaluó como la relación entre el diámetro polar y el ecuatorial. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS versión 11.0 sobre Windows.

Evaluación de la infección viral en condiciones de campo abierto. Para la evaluación de la incidencia de virosis causada por TYLCV, se emplearon los genotipos Campbell 28 y Vyta como controles susceptibles y resistentes a la enfermedad, respectivamente.

Las semillas de todos los genotipos fueron sembradas en cepellones con sustrato estandarizado (27) para favorecer su germinación. A los 25 días de nacidas, las

100 plantas de cada genotipo fueron transplantadas al área experimental de la finca "Las Papas", en un suelo Ferralítico Rojo lixiviado (20), a razón de 25 plantas por genotipo, con una distancia de 0.25 m entre plantas y 1.40 m entre surcos, ubicándose surcos de la variedad Campbell 28 de forma intercalada entre los surcos de las distintas accesiones, con el objetivo de lograr una mayor presión de inóculo en toda el área del experimento.

El diseño experimental empleado fue de Bloques al Azar, con un total de cuatro réplicas y una distancia entre bloques de 2 m. Para evaluar la incidencia de *geminivirus* en campo se empleó una escala de síntomas (23), para las 100 plantas de cada genotipo, durante cuatro tiempos diferentes de muestreo: 15, 30, 45 y 60 días después del trasplante (DPT).

Los datos de los síntomas en las plantas fueron tomados por dos observadores. A estos valores se les comprobó la no normalidad y homogeneidad de varianza, aún con las transformaciones de los datos realizadas, por lo que se procesaron empleando la prueba no paramétrica de *Kuskal-Wallis*, con el fin de obtener los valores de la suma de rangos, ejecutándose con estos una prueba no paramétrica de *Student-Newman-Keuls* (SNK) para un 5 % de significación, con el empleo del paquete estadístico SPSS para Windows, versión 11.5.

Para detectar la presencia del TYLCV, desde el punto de vista molecular, se tomaron al azar, entre las cuatro réplicas, muestras de folíolos de 10 plantas de todo el material vegetal en los mismos tiempos en que se realizó la evaluación de los síntomas. A las muestras colectadas se les extrajo el ADN y se les realizaron los análisis de hibridación de ácidos nucleicos (HAN radioactivo), utilizando para el marcaje sondas específicas de la región intergénica del TYLCV (7).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de evaluar la muestra del material vegetal, teniendo en cuenta los 20 caracteres analizados, permitieron examinar la variabilidad agromorfológica

existente entre las accesiones analizadas, donde se detectaron las diferencias fenotípicas relacionadas con el fruto y las características vegetativas de las plantas, así como las relacionadas con los componentes del rendimiento (Tablas III y IV). Estos resultados pudieron estar dados por diversas razones: país de origen de las accesiones caracterizadas, especies silvestres a partir de las cuales se obtuvieron los genotipos y la presencia de genotipos silvestres y cultivados.

En las accesiones se apreciaron diferencias en cuanto al tipo de crecimiento: tres con crecimiento determinado, dos con crecimiento semideterminado y tres con crecimiento indeterminado, estos últimos condicionados por la expresión del gen dominante *sp** (28), que atendiendo al tipo de crecimiento que presentan los tomates cultivados, pueden ser utilizados para uno u otros fines durante su cultivo (29).

Se observó que los tipos de hojas fueron muy diversos, mostrándose una representación de todos los tipos

descritos para las especies del género *Solanum* (21); asimismo se obtuvieron resultados diferentes para el carácter densidad del follaje, mostrándose genotipos con muy buena densidad que protegían muy bien a sus frutos, hasta en los que el follaje era escaso y sus frutos estaban más expuestos a las condiciones adversas que les podría proporcionar el ambiente donde crecieron las plantas.

Sin embargo, a pesar de la variabilidad morfológica detectada, se observó que, en todas las accesiones, prevaleció la inflorescencia del tipo unípara, lo cual permitió que se formaran racimos sencillos en las plantas de las accesiones vegetales caracterizadas.

Solamente dos de las accesiones evaluadas (Mex 121 A y TY 197) presentaron hombros verdes en sus frutos. En la actualidad, los frutos con estas características tienen cierta aceptación en el mercado, siempre y cuando no sea muy pronunciado y no esté ligado a otros genes presentes en muchas especies silvestres, que le transmiten sabores desagradables al tomate cultivado (30).

Tabla III. Resultados de la evaluación de los caracteres cuantitativos empleados para la caracterización de los materiales vegetales

Accesiones	Caracteres				
	PF	DPF	DEF	NL	NFSR
Vyta	100±0.13 b	48.5±0.07 c	63.0±0.13 a	3.6±0.22 d	3.6±0.16 c
PIMHIR	40.1±0.15 f	41.3±0.05 d	44.2±0.05 d	2.8±0.24 e	3.7±0.21 c
Mex-121 A	1.11±0.00 g	10.7±0.06 e	12.8±0.10 e	2.0±0.00 f	9.6±0.16 a
TY 197	80.0±0.12 c	41.1±0.02 d	55.5±0.09 b	4.4±0.26 c	3.0±0.21 d
H 24	70.1±0.13 d	39.9±0.15 d	56.0±0.61 b	6.4±0.16 a	3.5±0.16 c
TY 1	60.3±0.12 e	54.4±0.06 a	44.0±0.05 d	2.4±0.21 ef	3.8±0.13 c
CLN 2116 B	70.1±0.13 d	50.1±0.12 b	47.4±0.07 c	3.0±0.00 de	4.9±0.10 b
Campbell 28	140.1±0.15 a	50.8±0.09 b	64.1±0.04 a	5.6±0.37 b	2.9±0.17 d

Para cada genotipo, letras iguales no difieren significativamente para $p \leq 0.05$

Tabla IV. Resultados de la evaluación de los caracteres cualitativos empleados para la caracterización de los materiales vegetales

Caracteres	Accesiones							
	Vyta	PIMHIR	Mex-121 A	TY 197	H 24	TY 1	CLN 2116 B	Campbell 28
CH	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente
TC	Determinado	Indeterminado	Indeterminado	Semideterminado	Determinado	Indeterminado	Semideterminado	Determinado
DF	Intermedia	Escasa	Densa	Densa	Intermedia	Escasa	Escasa	Densa
PH	Horizontal	Horizontal	Horizontal	Semierecta	Horizontal	Colgante	Horizontal	Horizontal
TH	Estándar	Estándar	Pimpinellifolium	Perubianum	Estándar	Estándar	Papa	Estándar
TI	Unípara	Unípara	Unípara	Unípara	Unípara	Unípara	Unípara	Unípara
CEF	Verde claro	Verde	Verde oscuro	Verde oscuro	Verde claro	Verde	Verde	Verde
HF	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
IH	---	---	Fuerte	Fuerte	---	---	---	---
FF	Ligeramente achatado	Redondeado	Ligeramente achatado	Ligeramente achatado	Achatado	Redondo alargado	Redondo alargado	Ligeramente achatado
CEFM	Naranja	Naranja	Rojo	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja
FHF	Moderadamente hundida	Ligeramente hundida	Aplanada	Ligeramente hundida	Ligeramente hundida	Aplanada	Ligeramente hundida	Moderadamente hundida
FCIF	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Angular	Redonda	Redonda
FCP	Estrella	Punto	Punto	Estrella	Estrella	Punto	Punto	Estrella
FIFFF	Aplanada	Aplanada	Aplanada	Aplanada	Aplanada	Puntiaguda	Aplanada	Aplanada

Para cada valor, letras iguales no difieren significativamente para $p \leq 0.05$

Se distinguieron diferentes tipos de frutos: ligeramente achatados, redondeados, achatados y ligeramente alargados. Se debe destacar que la variedad Vyta presentó frutos ligeramente aplanados y de poca altura, lo que se corresponde con las dos formas tradicionales que se han observado en el país: "Placero" y "Cimarrón", los que probablemente fueron introducidos en Cuba antes o a principios de la conquista (5).

Se pudo constatar que, en las accesiones estudiadas, los caracteres cuantitativos se mostraron significativamente variables. La masa promedio estuvo comprendida entre 1,11 y 140,1g; para los frutos de mayor tamaño se observó un mayor número de lóculos (H 24, Campbell 28 y Vyta), mientras que las accesiones restantes se caracterizaron por presentar menor número de lóculos y menor tamaño de sus frutos. Al respecto, se ha señalado que los frutos con mayor número de lóculos tienen mayor presencia en la mesa, lo que los hace más aptos para el consumo fresco (30).

Asimismo, otros indicadores, como la forma de la cicatriz del pistilo, se mostraron variables, predominando la forma en punta para los frutos de menor peso y la estrellada para los frutos de mayor peso, número de lóculos y tamaño.

La accesión Mex-121 A, perteneciente a *S. pimpinellifolium*, presentó un crecimiento indeterminado, con hombro verde y aplanado, frutos rojos con diámetros inferiores a 15 mm, hojas típicas de la especie, así como flores con pistilos exertos, fenómeno típico de las especies silvestres del género donde la alogamia existe como sistema reproductivo (31). El análisis de agrupamiento mostró la formación de tres grupos bien diferenciados (Figura 1).

El grupo I estuvo conformado por los genotipos Vyta, Campbell 28 y H-24 y el grupo II por las accesiones PIMHIR, CLN 2116 B y TY 1, donde las diferencias mostradas por ambos estuvo dada principalmente por la forma y el tamaño que presentaron los frutos de los materiales evaluados y el tipo de crecimiento que presentaron las plantas.

Para las accesiones que conformaron el grupo III (Mex-121 A y TY 197), las diferencias estuvieron dadas por presentar hombros verdes en sus frutos, carácter que los hizo diferentes del resto de los materiales vegetales evaluados que conformaron los grupos I y II.

Atendiendo a los resultados alcanzados, durante la caracterización agromorfológica de los materiales evaluados, se pudo apreciar cierto grado de diversidad fenotípica en cada uno de ellos, lo cual resultaría interesante para ser utilizados como posibles parentales en los posprogramas de mejoramiento genético de la hortaliza (4).

Durante el diagnóstico visual de los síntomas solo se detectó, como genotipo muy susceptible, a la variedad Campbell 28, mientras que para las nuevas accesiones y la variedad Vyta, no se observaron los síntomas típicos de la enfermedad (Tabla V), pues los folíolos de las hojas más apicales siempre mantuvieron su coloración verde y no se apreció en las plantas el amarillamiento ni la rugosidad provocada por la sintomatología típica de los geminivirus (32, 33).

Tabla V. Valores obtenidos en los materiales vegetales a partir de los datos de síntomas tomados de las muestras y el análisis de HAN radioactivo

Accesiones	Días de muestreo y evaluación de las plantas				No. total de plantas
	15 (S/No.)	30 (S/No.)	45 (S/No.)	60 (S/No.)	
Vyta	0 b/0	0 b/0	0 b/2	0 b/4	6
PIMHIR	0 b/0	0 b/0	0 b/1	0 b/5	6
Mex-121 A	0 b/1	0 b/1	0 b/0	0 b/3	5
TY 197	0 b/0	0 b/0	0 b/1	0 b/2	3
H24	0 b/0	0 b/0	0 b/0	0 b/0	0
TY 1	0 b/0	0 b/0	0 b/1	0 b/0	1
CLN 2116 B	0 b/0	0 b/0	0 b/0	0 b/0	0
Campbell 28	1.19 a/2	2.11 a/2	3.11 a/9	3.72 a/10	23

Para cada genotipo, letras iguales no difieren significativamente para $p \leq 0.05$

S: escala de síntomas detectada

No.: Número de plantas con TYLCV, según los resultados de la hibridación

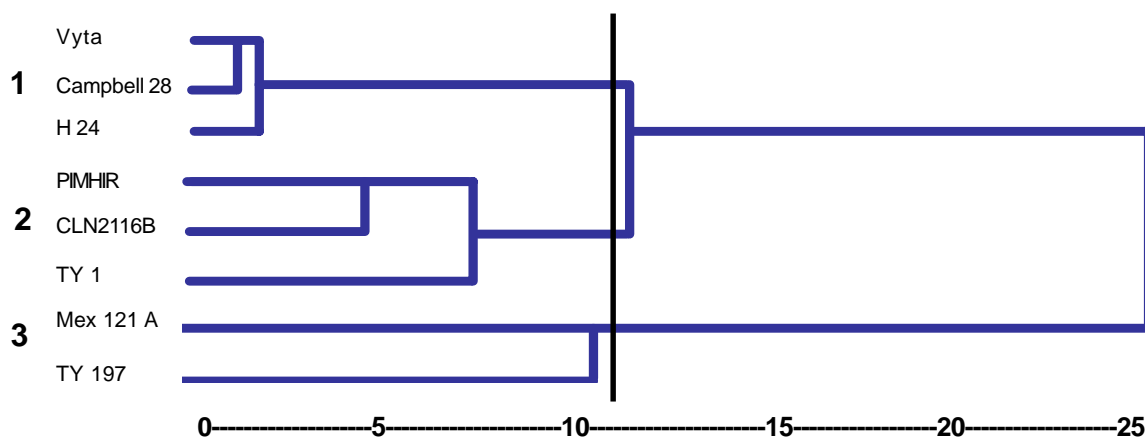


Figura 1. Dendrograma formado a partir de la matriz de valores de los resultados de las evaluaciones agromorfológicas realizadas

A los 15 días de muestreadas las plantas de la variedad Campbell 28, ya presentaban los síntomas típicos de la enfermedad, los cuales fueron acentuándose en el tiempo, de manera tal que a partir del segundo muestreo fueron significativamente más severos y en una escala más avanzada (Tabla VI), atendiendo a las valoraciones de severidad y sintomatología de los *geminivirus* para el cultivo (23). Similares resultados han sido obtenidos durante la evaluación de cultivares de tomate portadores de genes de resistencia al *TYLCV*, en la región oriental de Cuba, donde la variedad Campbell 28 mostró síntomas acentuados desde los primeros días después de realizado el transplante (34).

Tabla VI. Sintomatología expresada por la variedad Campbell 28 ante la infección causada por *geminivirus* en campo en las diferentes etapas en que se realizó el muestreo

Variedad	Días de la evaluación	Valor
Campbell 28	15 días después del transplante	1.19 d
	30 días después del transplante	2.11 c
	45 días después del transplante	3.11 b
	60 días después del transplante	3.72 a

Para cada valor, letras iguales no difieren significativamente para $p \leq 0.05$

La variedad Vyta no presentó síntomas en ninguno de los tiempos evaluados, lo cual corroboró su carácter resistente ante la enfermedad así como el empleo acertado de esta variedad como progenitor en los programas de mejoramiento para la resistencia al *TYLCV* (12); sin embargo, en un experimento desarrollado en cuatro áreas productoras de tomate de la provincia Granma (13), para la evaluación de la resistencia de esta variedad a *geminivirus*, se detectó la presencia de síntomas ligeros en plantas muestreadas durante su cultivo, los cuales aparecieron después del período crítico (entre 35 y 50 días después del transplante) de sembrado el cultivo.

El fenotipo asintomático expresado por la accesión H 24 se corresponde con los resultados frente al *TYLCV*-Tw (aislado de Taiwán), durante evaluaciones en parcelas experimentales del AVRDC (35). Sin embargo, en estudios de resistencia al virus en campos de tomates, en Guatemala, se observó que la línea se comportaba como un genotipo susceptible ante las especies o linajes de begomovirus bipartitos del país (8).

Los resultados del genotipo H 24 y CLN 2116 B también se relacionan con lo divulgado por el AVRDC de Taiwán, donde se enunció que este genotipo porta genes que le confieren tolerancia a algunos linajes de *TYLCV* presentes en el mundo, como son los de Taiwán, norte de Vietnam, sur de la India e Israel, no así para los linajes del norte de la India, Tailandia, Filipinas y América Central (36). No obstante, los programas de mejora genética del tomate han empleado este genotipo como portador del gen *Ty-2*, en la creación de materiales resistentes del AVRDC de Taiwán (25, 36), donde corporaciones asiáticas de producción de semillas híbridas han utilizado di-

cho gen en los nuevos materiales que salen al mercado internacional (37).

Para el caso de la accesión PIMHIR, los resultados se corresponden con el comportamiento expresado ante los linajes de *TYLCV* presentes en España.

En relación con la línea TY 197 (8), en un estudio de resistencia y obtención de nuevos materiales genéticos con resistencia al complejo de begomovirus bipartitos presentes en Guatemala, se observó un buen comportamiento y ausencia de síntomas ante la incidencia de los *geminivirus*, de esta región en este material, lo cual se corrobora con los resultados de este trabajo. Este genotipo, además, ha sido utilizado en los trabajos de resistencia a *geminivirus*, presentes en Brasil (38), donde observaron un buen comportamiento de todas las plantas luego de ser inoculadas cuatro semanas con mosca blanca, de forma controlada, lo cual les indicó que este material constituía una buena fuente de resistencia a los aislados circulantes en el país.

El gen *Ty-1* ha sido sin dudas uno de los más estudiados y empleados en los programas de mejoramiento genético del tomate a *geminivirus* a nivel internacional, pues ha mostrado un gran espectro de resistencia ante varios aislados del virus prospectados en diversas regiones del mundo (39).

En Cuba, este gen fue aprovechado por el programa de mejoramiento genético de tomate del Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", donde a través de introgresiones realizadas del gen *Ty-1* en genotipos susceptibles, se obtuvieron líneas resistentes al complejo mosca blanca-*geminivirus*, hasta obtener con gran generalización en zonas productoras del país la variedad comercial Vyta (12, 40), la cual ha sido empleada como control resistente a *TYLCV* y en los programas de mejora genética e incorporación del gen *Ty-1* a variedades de interés comercial (41).

Los resultados de la línea TY-1 coinciden con los planteamientos, por lo que constituirá un material interesante a explotar en función del mejoramiento varietal y la obtención de nuevos materiales que se comporten genéticamente resistentes al virus y con características agromorfológicas de interés comercial.

También resultó interesante observar que el comportamiento asintomático expresado por el genotipo Mex-121 A coincidió con las descripciones realizadas en la caracterización de una colección del género *Solanum* en Cuba, donde se observó que por dos años consecutivos (2003-2004), este genotipo no presentó las afectaciones ni la sintomatología típica expresada por la acción del *TYLCV* en las plantas muestreadas (22).

El análisis por hibridación de ácidos nucleicos mostró que en las accesiones portadoras del gen *Ty-2* (H 24 y CLN 2116 B), no se detectaron replicaciones del virus durante los tiempos en que se efectuó el muestreo (Tabla V). En los genotipos Vyta, PIMHIR, Mex-121 A, TY 197 y TY 1 se detectaron entre una y seis plantas con replicaciones de *TYLCV*, mientras que la variedad Campbell 28 presentó el mayor número de plantas con concentraciones virales.

La combinación de los resultados del análisis por sintomatología y la hibridación de ácidos nucleicos de todos los genotipos, permitió confirmar que la variedad Campbell 28 mantiene su carácter susceptible ante la enfermedad y los materiales restantes expresaron un carácter resistente ante el virus en estas condiciones de infección, donde el insecto vector se encuentra distribuido de forma más heterogénea o no se encuentra en cantidades suficientes y el escape para la infección podría ser mayor, considerando resistentes a genotipos que no cumplen con este criterio de evaluación (42), por lo que resultaría interesante retar estos materiales clasificados como resistentes a través de una infección mediada por mosca blanca o *Agrobacterium* ante el aislado cubano de forma controlada.

La hibridación de ácidos nucleicos ha sido una herramienta empleada en diversos programas de mejora genética del tomate a nivel internacional, permitiendo el diagnóstico y la estimación de las concentraciones virales de los materiales evaluados (43). En Cuba, los resultados de las aplicaciones de este método en el diagnóstico y control del TYLCV han constituido una metodología, que ofrece ventajas en el procesamiento masivo de muestras vegetales, con bajos riesgos de contaminación en el análisis y elevada especificidad (44, 45). Con los resultados se demostró, una vez más, la condición susceptible del cultivar Campbell 28 ante TYLCV y se corroboró la selección aceptada de emplear este genotipo como control positivo al virus. Comportamientos similares se han presentado en experimentos realizados con plantas transgénicas a TYLCV (7) y en el mejoramiento genético de tomate a Begomovirus en Cuba (12, 41).

Teniendo en cuenta estos resultados, se pudo referir que los materiales vegetales introducidos se adaptaron a nuestras condiciones edafoclimáticas, expresando una diversidad agromorfológica en la caracterización realizada. Se confirmó, además, el comportamiento de estas accesiones ante el aislado de TYLCV circulante en Cuba, donde la combinación de las técnicas de diagnóstico siguen constituyendo una herramienta necesaria para los programas de mejoramiento genético de las enfermedades en plantas.

REFERENCIAS

- Ji, Y. /et.al/. Ty-3, A begomovirus resistance locus near the tomato yellow leaf curl virus resistance locus Ty-1 on chromosome 6 of tomato. Mol. Breeding. DOI 10.1007/s11032-007-9089-7. 2007. Springer Science+Business Media B.V.
- Tsutomu, A. Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. *Plant Biotechnology*, 2007, vol. 24, p. 135-147.
- Peralta, I. E. /et al./. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Perú. *Systematic Botany*, 2005. 30: 424-434.
- Gómez, O. /et al./. Mejora genética y manejo del cultivo del tomate para la producción del Caribe. La Habana: Ed. Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", 2000, 159p.
- Álvarez, M. /et al./. Resultados de la mejora genética del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y su incidencia en la producción hortícola en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 2003, vol. 24, no.2, p. 63-70.
- García-Martínez, S. /et al./. Estudio de la eficacia de un marcador molecular CAPS en la selección de plantas tolerantes a TYLCV. *Actas de Horticultura*. En: Congreso de Mejora Genética de Plantas-León (2:2004:León), p. 123-126.
- EPPO. 2005. Plant quarantine. Disponible en: www.eppo.org/Quarantine/virus/TYLCV_virus/TYLC00_map.htm. Consultado (12-12-07).
- Fuentes, A. /et.al/. Intron-hairpin RNA derived from replication associated portion C1 gene confers immunity to Tomato Yellow Leaf Curl Virus infection in transgenic tomato plants. *Transgenic Research*, 2006, vol. 15, p. 291-304.
- Maxwell, D.P. Evaluation of tomato germplasm and selection of breeding lines for resistance to Begomovirus in Guatemala. *Acta Hort.*, 2005, vol. 695.
- Herrera, L. /et al./. Techniques for detection of Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) in infected plants and viruliferous whiteflies. *Bioteología Aplicada*, 1999, vol. 16, no. 4, p. 237-242.
- Martínez, Y. /et al./. Geminiviruses associated with diseased tomatoes in Cuba. *Phytopathology*, 1996, vol. 144, p. 277-279.
- Gómez, O. /et al./. Breeding for resistance to begomovirus in tropic-adapted tomato genotypes. *Plant Breeding*, 2004, vol. 123, no.3, p. 275-279.
- Verdecia, A. Validación de la variedad de tomate "Vyta" para consumo fresco, con resistencia a geminivirus en áreas productoras de la provincia Granma (Cuba). *Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos*, 2003, no. 344, p. 51-54.
- Pérez de Castro, A. /et al./. Identificación de nuevas fuentes de resistencia al virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV). *Actas de Horticultura En: Congreso de Mejora Genética de Plantas-León. (2: 2004: León)* p. 119-122.
- Ji, Y. /et al./. Sources of resistance, inheritance, and location of genetic loci conferring resistance to members of the tomato infecting begomoviruses. En: Czosnek H (ed.) *Tomato yellow leaf curl virus disease: Management, molecular biology, breeding for resistance*. 2007. Dordrecht, Kluwer.
- Baldin, E.L. /et al./. Resistencia de genotipos de tomateiro a mosca branca *Bemisia tabaci* (*Gennadius*) biotipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Crop Protection*, 2005, p. 435-441.
- Alba, J. M. Herencia de los mecanismos de resistencia a araña roja en tomate (Tesis de Doctorado). Universidad de Málaga. 2006. 242 p.
- Zamir, D. /et al./. Mapping and introgression of a tomato yellow leaf curl virus tolerance gene, Ty-1. *Theoretical and Applied Genetics*, 1994, vol. 88, p. 141-146.
- Hanson, P. M. /et al./. Ty-2, a gene on chromosome 11 conditioning geminivirus resistance in tomato. *Tomato Genetics Coop Rep.*, 2006, vol. 56, p. 17-18.
- Cuba. Minagri. Instituto de Suelos. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. La Habana: Agrinfor, 1999, 107 p.
- IPGRI. Descriptores para el tomate (*Lycopersicon* spp.). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. 1996. Roma, Italia. 44 p.

22. Shagarodsky, T /et al./ "Caracterización de una colección del género *Lycopersicon* frente a la incidencia del virus TYLC (*Tomato Yellow Leaf Curl Virus*)". En: Taller Internacional sobre Recursos Fitogenéticos (6: 2005 nov. 2-4: Sancti Spiritus) p. 63-64.
23. Lapidot, M. y Friedmann, M. Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. *Ann. Appl. Biol.*, 2002, vol. 140, p. 109-127.
24. Kalloo, G. y Banerjee, M. K. Transfer of tomato leaf curl virus resistance from *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to *L. esculentum*. *Plant Breeding*, 1990, vol. 105, p. 156-159.
25. AVRDC. Application of molecular markers on tomato breeding. *AVRDC Progress Report*, 2002, p. 9-10.
26. Fernández-Muñoz, R. /et al./ Caracterización de cultivares de tomate en diferentes ambientes. Actas de Horticultura. En: Jornadas de Selección y Mejora de plantas Hortícolas. (12: 2000 sept. 11-14: Huesca)
27. Paneque, V.; Calañas, J. Abonos orgánicos. Conceptos y prácticas para su evaluación y aplicación. 1^{ra}. ed. La Habana: Ed. ACTAF, 2004. 54p.
28. Quirós, C. F. Markers and their applications. VC2221: Tomato. Disponible en: (www.vegghome.ucdavis). Consultado 2-2, 2002.
29. Moya, C. /et al./ Evaluación de nuevos cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en los periodos temprano y óptimo de siembra. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 22, no. 2, p. 37-43.
30. Moya, C. /et al./ Caracterización morfoagronómica de una colección de variedades, líneas e híbridos de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) en condiciones de organopónicos. *Cultivos Tropicales*, 2003, vol. 24, no. 3, p. 51-58.
31. Anaïs, G. Tomate. En: A. Charrier; M. Jacquot; S. Hamon; D. Nicolas eds. *Tropical Plant Breeding*. 2001. p. 524-553.
32. Gafni, Y. Tomato yellow leaf curl virus, the intracellular dynamics of a plant DNA virus. *Molecular Plant Pathology*, 2003, vol. 4, no. 1, p. 9-15.
33. Köklü, G. Molecular identification and the complete nucleotide sequence of a tomato yellow leaf curl virus isolate from turkey. *Journal of Plant Pathology*, 2006, vol. 88, no. 1, p. 61-66.
34. Puertas, A. /et al./ Comportamiento de cultivares de tomates portadores de genes de resistencia al TYLCV frente a geminivirus transmitidos por mosca blanca en condiciones de bajos insumos en la región Oriental de Cuba. *Protección Vegetal*, 2003, vol. 18, no. 2, p. 129-132.
35. Zhengxing, L. Screening for resistance to tomato yellow leaf curl virus. *Report Asian Regional Center*, 1999, p. 1-6.
36. AVRDC. Promising tomato lines resist leaf curl viruses. News AVRDC, 2006.
37. Green-Seeds. Disponible en: <http://www.green-seeds.com>. Consultado (1-12-2007).
38. Martín, S /et al./ Sources of resistance in *Lycopersicon* spp. to bipartite whitefly-transmitted geminivirus from Brazil. *Euphytica*, 2001, vol. 122, no. 1, p. 45-51.
39. Vidavsky, F. /et al./ Behavior of tolerant tomato breeding lines (*Lycopersicon esculentum*) originated from three different sources (*L. peruvianum*, *L. pimpinellifolium* and *L. chilense*) upon early controlled inoculation by tomato yellow leaf curl virus. *Plant Breeding*, 2006, vol. 117, p. 165-169.
40. Piñón, M. /et al./ RFLP analysis of Cuban tomato breeding lines with resistance to tomato yellow leaf curl virus. *Acta Hort.*, 2005, vol. 695, p. 273-276.
41. Dueñas, F. /et al./ Evaluación de genotipos de *Lycopersicon esculentum* Mill. frente al virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV). *Cultivos Tropicales*, 2006, vol. 27, no. 3, p. 63-68.
42. Niks, R. E. y Lindhout, W. H. Curso sobre mejoramiento para resistencia a enfermedades y plagas. 3 ed. The Netherlands, Wageningen, 2004, 216 p.
43. Picó, B. /et al./ Agroinoculation methods to screen wild *Lycopersicon* for resistance to tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Plant Pathology*, 2001, vol. 83, no. 3, p. 215-220.
44. Martínez, Y. /et al./ Evaluación de parámetros analíticos para la detección molecular de geminivirus que afectan el cultivo del tomate en Cuba. *Rev. Protección Vegetal*, 2001, vol. 16, no. 1, p. 55-61.
45. Quiñónez, M. /et al./ Comparación de métodos de hibridación de ácidos nucleicos para el diagnóstico del virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) en Cuba. *Protección Vegetal*, 2004, vol. 14, no. 1, p. 26-32.

Recibido: 16 de octubre de 2007

Aceptado: 17 de abril de 2008