

OPTIMIZACIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ESTADÍGRAFOS SIMPLES. CASO TOMATE SILVESTRE (*Solanum pimpinellifolium* L.)

Dr. Byron E. Zevallos Bravo

Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (ESPAM-MFL), Campus Politécnico El Limón, Carrera de Ingeniería Agrícola, Calceta, Manabí, Ecuador. Contacto. bzevallos@espam.edu.ec, bzevallosbravo02@gmail.com

RESUMEN

El tomate es uno de los cultivos más importantes de la agricultura actual por lo cual se desarrollan programas de mejoramiento genético. Tales programas requieren de la conservación de los recursos genéticos existentes, específicamente, de la diversidad de las accesiones no cultivadas pues durante su evolución desarrollaron múltiples características que les permitieron sobrevivir en condiciones extremas. La presente investigación se enmarca dentro de los esfuerzos que se realizan a nivel global para evitar la erosión genética. Los bancos de germoplasma, por lo general, se organizan en base a la conservación del mayor número de accesiones pero esto deriva en problemas de gestión de espacio y aumento de costos, prestando poca atención a la representatividad genética (intrapoblacional e interpoblacional) de cada taxón conservado. En los últimos años se ha demostrado la importancia de conservar poblaciones representativas, por lo que la recolección se basa en una planificación que permita conservar la mayor representatividad genética en el menor número posible de accesiones. Las publicaciones referidas al tema, no destacan la importancia del análisis estadístico en la caracterización morfológica de los recursos genéticos. Con estos fundamentos, el objetivo planteado fue la aplicación de varios estadígrafos simples que permitan estimar y describir el comportamiento de las accesiones colectadas en relación con cada carácter. Se concluye que la aplicación de varios estadígrafos (promedio, media aritmética, rango de variación, desviación estándar, coeficiente de variación y un análisis jerárquico de clusters) permitió la obtención de información genética útil, con marcadas diferencias en la mayoría de los indicadores aplicados, e importantes de conservar.

Palabras clave: Accesiones, Pariente silvestre, Estadística simple, Dendograma.

1. Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas más cultivadas en el mundo y los principales países productores son China, India, Estados Unidos y Turquía. En el año 2012 el área de cultivo alcanzó 4,803.680 ha con un volumen de producción total de 211,021.843 t (FAOSTAT, 2012). Es una fuente rica en vitaminas A, B1, B2, B6, C, E y minerales, además de proteínas, carbohidratos, fibra, ácido fólico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido salicílico y fuente de licopeno (Jaramillo *et al.*, 2007).

El género *Solanum* L. subsección *Lycopersicon* (Mill.) Wettst. incluye 17 especies entre las que se encuentran el tomate cultivado (*S. lycopersicum* L.) y la especie silvestre *Solanum pimpinellifolium* L. (Spooner *et al.*, 2005). Ambas especies son auto-compatibles y con frutos rojos, pero difieren en el tamaño del fruto y la forma de su hoja (Peralta y Spooner, 2000). Esta última se ha utilizado como fuente de genes para el mejoramiento de importantes rasgos del tomate comercial (Rick y Chetelat, 1995; Zuriaga *et al.*, 2009), por sus facilidades de hibridación con la especie *S. lycopersicum*.

La ubicación geográfica de *S. pimpinellifolium* está restringida a zonas costeras de Perú y Ecuador, y las accesiones ecuatorianas son las menos representadas en la base de datos a nivel internacional (Zuriaga *et al.*, 2009). Además, las poblaciones se han reducido o presentan riesgos de extinción debido a la pérdida de hábitat por factores climáticos (Bioversity, 2006). Por lo anterior, se justifica la investigación ya que es indispensable establecer una estrategia complementaria para la preservación de la mayor representatividad genética de la especie silvestre *S. pimpinellifolium*.

En este sentido, Ecuador figura a nivel mundial entre los cinco países con más alto grado de diversidad biológica (MAE, 2010). Sin embargo, las especies silvestres afines a las cultivadas han sido poco estudiadas y no consideradas de manera explícita en las políticas ambientales (Tapia *et al.*, 2008). En el caso particular de Manabí, provincia costera localizada en el emplazamiento centro-noroeste del Ecuador continental, se considera un centro de agrobiodiversidad muy importante, donde varios de sus cantones presentan una alta vulnerabilidad al cambio climático

(COPISA, 2012).

El concepto de estrategia de conservación complementaria incluye una combinación de diferentes acciones que conducen al uso sostenible de la diversidad (Dulloo *et al.*, 2009). El principio considera el rango de opciones de conservación disponibles y aplica la combinación apropiada y específica (Hunter y Heywood, 2012).

Los dos principales enfoques (*ex situ* e *in situ*) son importantes (Hunter y Heywood, 2012). Mientras que la conservación *in situ* es esencial para generar nueva diversidad por procesos de selección natural, tiene desventajas para la conservación en cuanto a la posibilidad de usar estos recursos genéticos en el fitomejoramiento (Maxted y Kell, 2009). Es importante respaldar la intervención *in situ* con una conservación complementaria *ex situ* en bancos de germoplasma como semilla, plantas vivas (en campo o en jardines botánicos), cultivo de tejidos o crioconservación (Hunter y Heywood, 2012)., con la mayor representatividad genética.

La variabilidad genética en plantas cuando se expresa en caracteres visibles se denomina fenotípica y dentro de ella se encuentran las características botánicas-taxonómicas, las morfoagronómicas y las evaluativas. Esta variabilidad puede ser analizada mediante el empleo de métodos simples y su aplicación permite obtener conclusiones acerca de la variabilidad y utilidad del germoplasma considerando la vulnerabilidad de esos recursos genéticos y la necesidad de protegerlos (Hidalgo, 2003).

De los antecedentes descritos y a partir de la hipótesis: “La aplicación de estadígrafos simples en la caracterización morfológica de accesiones de tomate silvestre (*S. pimpinellifolium* L.), es una alternativa que permitirá conservar la mayor representatividad genética de la colecta. En el presente trabajo experimental se abordó el siguiente Objetivo:

Aplicar varios estadígrafos simples que permitan estimar y describir el comportamiento de las accesiones colectadas en relación con cada carácter.

2. Desarrollo

A partir de una colecta de 63 accesiones de tomate silvestre realizada en el cantón Bolívar, provincia de Manabí, se procedió a su caracterización morfológica *ex situ* en condiciones de campo realizada en el área experimental de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, se seleccionaron 41 descriptores de caracterización cualitativa y cuantitativa para el tomate, específicamente, de la planta, inflorescencia y fruto, susceptibilidad a estrés biótico y abiótico, propuestos por el *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI, 1996).

Se establecieron tres repeticiones de 30 plantas cada una. Dentro de cada repetición, las accesiones se distribuyeron al azar en un marco de siembra de hilera simple con un distanciamiento de 150 cm x 150 cm. Se aplicó riego superficial por surcos en tres momentos diferentes, en el trasplante de las plantas desde el semillero, a los 7 y 21 días, las posteriores exigencias hídricas del cultivo fueron satisfechas por la pluviosidad imperante (410 mm). La caracterización botánica se ejecutó a los 120 días de crecimiento de las plantas.

Se puede definir a un pariente silvestre de una especie cultivada como una planta silvestre más o menos relacionada con un cultivo al que le puede aportar material genético pero que, a diferencia de la especie cultivada, no se ha domesticado (Heywood *et al.*, 2007). Como evidencia de la importancia de estos recursos para el mejoramiento de los cultivos realizado en las últimas décadas, Maxted y Kell (2009), señalan 91 artículos que indican la identificación y transferencia de caracteres útiles provenientes de 185 taxones de parientes silvestre a 29 especies cultivadas.

En estudios de diversidad como el propuesto, la elección de los caracteres juega un papel importante, puesto que algunos pueden ser más variables entre individuos y, por tanto, más discriminantes. Por ello, punto de partida es la utilización de los descriptores editados por el *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI). Entre otros, podemos encontrar los descriptores de tomate (IPGRI, 1996), los que permiten una discriminación fácil y rápida entre fenotipos, por lo general son caracteres muy heredables, que pueden detectarse a simple vista y se expresan en todos los ambientes.

En general se diferencian dos tipos de descriptores, los cualitativos y los cuantitativos. Los cuantitativos son aquellos que se pueden medir y se evaluaron: Longitud de la guía (m), Longitud del pétalo (mm), Longitud del sépalo (mm), Masa del fruto (g), Longitud del fruto maduro (cm), Ancho del fruto (cm), Longitud del pedicelo (mm), Grosor del pericarpio (mm), Tamaño del corazón (mm), Sólidos solubles (^oBrix), Acidez del fruto, Número de frutos por inflorescencia y Número de lóculos. Los descriptores cualitativos son aquellos que responden a factores, que no podemos medir directamente, pero sí los podemos apreciar, se evaluaron: Tipo de crecimiento, Densidad de la pubescencia del tallo, Densidad del follaje, Posición de la hoja, Tipo de hoja, Disección de la hoja, Coloración de las venas, Color de la corola, Tipo de corola, Uniformidad de la madurez, Color del fruto no maduro, Rayas verdes en los frutos, Pubescencia del fruto, Forma predominante del fruto, Tamaño del fruto, Homogeneidad del fruto, Color del fruto maduro, Intensidad del color del fruto, Forma secundaria del fruto, Hombro del fruto, Color del pericarpio, Intensidad del color del pericarpio, Forma del corte transversal del fruto, Susceptibilidad al estrés por sequía, Susceptibilidad al estrés por insectos y Susceptibilidad al estrés por hongos.

En cuanto a la aplicación de los estadígrafos, permiten obtener información útil que para inferir resultados e interrogantes claves; Se utilizó la media aritmética como una medida de tendencia central que permite relacionar un atributo de una accesión con un valor central de dicho atributo. Además, se utilizó el rango de variación para establecer la diferencia entre el valor mínimo y el máximo de cualquier variable sobre el conjunto de accesiones estudiadas. La desviación estándar, cuantifica la magnitud de la variación respecto a la media aritmética. El coeficiente de variación facilita la comparación de la variabilidad de una misma característica en dos grupos de accesiones o de caracteres medidos sobre la misma colección por ej. los caracteres con $CV > 50\%$, sugiere que tienen alta variabilidad. Así mismo, variables con $CV < 20\%$, indica que la especie tiene poca variabilidad en estos caracteres. No obstante, el grado de variabilidad de un carácter no indica necesariamente la magnitud de su utilidad desde el punto de vista del cultivo, ya que esto depende de los usos de la especie.

El dendograma se generó con el cuadrado de la distancia Euclídeana y para clasificar las accesiones en grupos homogéneos, se procedió a realizar el corte con una distancia de combinación de 20.

3. Resultados

El análisis jerárquico de clusters, mostró un dendograma que se generó con los agrupamientos promedios de las 13 variables cuantitativas evaluadas *ex situ*, bajo condiciones controladas en el área experimental de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí (Figura # 1).

Se conformaron tres grupos en los cuales se ubicaron las accesiones que se parecieron más en cuanto a todas las variables cuantitativas evaluadas (Figura # 1). El grupo 1 estuvo conformado por 44 accesiones cuyos valores en los descriptores longitud de guía y longitud de pétalo son considerados altos; los descriptores que se encontraron cercanos al valor promedio de las accesiones fueron longitud del sépalo, número de frutos por inflorescencia, grosor del pericarpio y número de lóculos; y los descriptores con valores bajos en este grupo fueron masa del fruto, longitud del fruto, ancho del fruto, longitud del pedicelo, tamaño del corazón, sólidos solubles y acidez del fruto.

El grupo 2 estuvo conformado por 13 accesiones con valores considerados altos para los descriptores sólidos solubles y acidez del fruto; valores cercanos al promedio para los descriptores longitud de la guía, longitud del pétalo, masa del fruto, longitud del fruto, ancho del fruto, longitud del pedicelo y tamaño del corazón; así como, valores bajos para la longitud del sépalo, frutos por inflorescencia, grosor del pericarpio y número de lóculos.

El grupo 3 estuvo conformado por 6 accesiones y con valores altos para los siguientes descriptores, longitud de sépalo, frutos por inflorescencia, masa de fruto, longitud de fruto, ancho de fruto, longitud de pedicelo, grosor del pericarpio, tamaño del corazón y número de lóculos; se encontraron cercano al valor promedio los descriptores, sólidos solubles y acidez del fruto; y con valores considerados bajos de los descriptores longitud de guía y longitud de pétalo.

El análisis de las variables cualitativas permitió establecer que existió una gran similitud en la mayoría de los descriptores aplicados a los grupos establecidos, es así

que, prevalecieron plantas con un tipo de crecimiento semideterminado, tamaño de planta intermedio, densidad de pubescencia del tallo densa, longitud del entre nudo corto, densidad del follaje intermedio, posición de la hoja horizontal, tipo de hoja pimpinellifolium, disección de la hoja alta, coloración de las venas normales, color de la corola amarilla, tipo de corola abierta, color del fruto no maduro blanco verduzco, rayas verdes en el fruto no maduro presente, pubescencia en el fruto escasa, forma predominante del fruto redondeado, homogeneidad del fruto alta, color del fruto maduro rojo, intensidad del color del fruto alto, forma secundaria del fruto ligeramente achatado, hombro del fruto aplanado, color del pericarpio rojo, intensidad del color del pericarpio intermedia, forma del corte transversal del fruto redondo, susceptibilidad a estrés abiótico (sequía) muy baja, susceptibilidad a estrés biótico por insectos (*P. longifila*) muy baja, susceptibilidad a estrés biótico por hongos (*Phytophthora* spp) muy baja. La similitud descrita no fue compartida en el descriptor uniformidad de madurez en donde las accesiones del grupo 1 fueron catalogadas como de madurez intermedia y las accesiones del grupo 2 y 3 como buena, además, el descriptor tamaño del fruto evidenció diferencias entre los grupos, por lo que correspondió al grupo 1 y 2 el calificativo de frutos medianos y para el grupo 3, frutos grandes.

Los caracteres masa del fruto, longitud del sépalo y grosor del pericarpio tuvieron un CV >30%, lo cual sugiere que tienen la más alta variabilidad en la especie. Así mismo, apareció la variable acidez del fruto con CV <10%, lo que indica que *S. pimpinellifolium* puede tener poca variabilidad en ese carácter (Tabla 1). Se concluye que la aplicación de estadísticos simples permiten estimar y describir el comportamiento de las diferentes accesiones en relación con cada carácter, estos se deben realizar antes de cualquier análisis multivariado, ya que proporcionan una idea general de la variabilidad del germoplasma y permiten inmediatamente detectar datos no esperados y errores de medición en el ingreso de datos (Hidalgo, 2003)

Lobo y Medina (2001) realizaron un estudio de variabilidad morfológica con 39 caracteres cualitativos y 11 cuantitativos de tomate cherry, evaluaron y caracterizaron 82 introducciones de tomate cherry provenientes de diferentes partes del mundo. Los resultados obtenidos mostraron una amplia variabilidad cualitativa y cuantitativa, señalaron un gran potencial para realizar mejoramiento de este tomate cherry o para insertar genes a materiales de frutos grandes. Restrepo, (2007) evaluó 25 accesiones de tomate tipo "chonto" provenientes de diferentes departamentos de Colombia y

encontró diferencias altamente significativas entre las accesiones para 11 de los 14 descriptores y coeficientes de variación altos, además indicó el uso promisorio de la colección.

La respuesta de las accesiones colectadas a diferentes estreses bióticos y abióticos es de resaltar pues existe información científica que afirma la posibilidad de uso de ese recurso en el mejoramiento genético (Florido *et al.*, 2007). En ese contexto, Rodríguez, (2012) encontró fuentes de resistencia al virus del mosaico amarillo de la papa (PYMV-Col) en las introducciones de tomate silvestre analizadas, en las cuales aplicó una selección individual por plantas que no presentaran replicación del virus en ninguno de los tiempos evaluados, en condiciones de campo. La identificación de dos regiones genómicas asociadas a la resistencia que posee la especie silvestre *S. pimpinellifolium* a *Phytophthora infestans*, considerada como una de las enfermedades más devastadoras del cultivo de tomate, fue observada por Merck *et al.*, (2012).

4. Conclusión

- La aplicación de estadísticos simples permitió estimar y describir el comportamiento de las diferentes accesiones en relación con cada carácter.
- La información científica precedente señaló lo importante para futuros programas de mejoramiento genético del tomate preservar sus parientes silvestres con marcadas diferencias en la mayoría de los indicadores aplicados, e importantes de conservar.

5. Bibliografía

Bioversity (2006). Parientes silvestres de cultivos. Geneflow, Roma.

COPISA (2012). Conferencia Plurinacional e Intercultural de Soberanía Alimentaria. Propuesta de Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento Agroecológico, *In* Comisión Técnica de Agrobiodiversidad S, Agroecología, Soberanía Alimentaria, (ed.), Quito.

Dulloo ME, Ebert AW, Dussert S, Gotor E, Astorg C, Vásquez N, Rakotomalala JJ, Rabemiafar A, Eira M, Bellachew B, Omondi C, Engelmann F, Anthony F, Watts J, Qamar Z, Snook L (2009). Cost efficiency of cryopreservation as a

- long-term conservation method for coffee genetic resources. *Crop Sci* 49:2123-2138.
- FAOSTAT (2012). Statistical database of the food and agriculture of the United Nations. <http://faostatfaoorg/DesktopDefault.aspx?PageID=567&lang=es#ancor>
- Heywood V, Casas A, Ford-Lloyd B, Kell S, Maxted N. (2007). Conservation and sustainable use of crop wild relatives. *Agric Ecosyst Environ*;121:245-55.
- Hidalgo R (2003). Variabilidad Genética y Caracterización de Especies Vegetales. In: Franco TL, Hidalgo R (eds) Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI) Boletín técnico no.8, Cali, Colombia, pp 15
- Hunter D, Heywood V (2012). Parientes silvestres de los cultivos: manual para la conservación *in situ*. Bioversity International, Roma, Italia.
- IPGRI (1996). Descriptors for tomato (*Lycopersicon spp.*). International Plant Genetic Resources, Rome.
- Jaramillo J, Rodríguez V, Guzmán M, Zapata M, Rengifo T. (2007). Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas. Consultado 2013.
<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1374s/a1374s02.pdf>
- Lobo M, Medina CI (2001). Variabilidad morfológica en el tomate pajarito (*Lycopersicon esculentum* var *ceraciforme*), precursor del tomate cultivado. *Rev Corp* 3
- MAE (2010). Cuarto Informe Nacional para el Convenio sobre la Diversidad Biológica. Quito.
- Maxted N, Kell SP (2009). Establishment of a Global Network for the *In Situ* Conservation of Crop Wild Relatives: Status and Needs. Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura de la FAO, Roma, Italia.
- Merck H, Ashrafi H, Foolad M (2012). Selective genotyping to identify late blight resistance genes in an accession of the tomato wild species *Solanum pimpinellifolium* L. *Euphytica* 187:63-75
- Peralta IE, Spooner DM (2000). Classification of wild tomatoes: a review. *Kurtziana* 28:45-54
- Pratta G, Rodriguez G, Zorzoli R, Valle E, Picardi L (2011). Phenotypic and molecular characterization of selected tomato recombinant inbred lines derived from the cross *Solanum lycopersicum* × *S. pimpinellifolium*. *J Genet* 90:229-237

- Restrepo E. (2007). Estudios básicos para iniciar la producción de cultivares de tomate *Solanum lycopersicum* L. con resistencia al pasador del fruto *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée). Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Colombia, Palmira.
- Rick CM, Chetelat RT (1995). Utilization of related wild species for tomato improvement. Act Hort 412:21-38
- Rodríguez D. (2012). Identificación de Fuentes de Resistencia a Begomovirus en Introducciones silvestres de Tomate, Universidad Nacional de Colombia, Palmira.
- Spooner DM, Peralta I, Knapp S (2005). Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes *Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.). Taxon 54:43-61
- Tapia C, Zambrano E, Montero A (2008). Estado de los recursos fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. INIAP, Quito.
- Zuriaga E, Blanca JM, Cordero L, Sifres A, Blas-Cerdán W, Morales R, Nuez F (2009) Genetic and bioclimatic variation in *Solanum pimpinellifolium*. Gen Res Crop Evol 56:39-51

6. Anexos

Tabla 1. Descriptores de características cuantitativas y estadísticos simples en la evaluación *ex situ* de tomate silvestre (*S. pimpinellifolium*) en el cantón Bolívar, Manabí, Ecuador.

DESCRIPTOR	ESTADÍSTICOS				
	n	\bar{X}	S ²	r	CV %
Longitud de la enredadera (m)	63	2,13	0,36	1,9	17,08
Longitud de pétalo (mm)	63	8,44	1,37	6,0	16,30
Longitud del sépalo (mm)	63	3,85	1,17	7,0	30,48
Masa del fruto (g)	63	2,65	0,85	5,2	32,11
Longitud del fruto maduro (cm)	63	1,47	0,15	0,7	10,73
Ancho del fruto (cm)	63	1,61	0,18	1,0	11,23
Longitud del pedicelo (mm)	63	7,22	0,99	5,0	13,72
Grosor del pericarpio (mm)	63	1,17	0,35	1,5	30,32
Tamaño del corazón (mm)	63	5,42	1,22	6,0	22,61
Sólidos solubles (°Brix)	63	7,44	1,25	6,0	16,83
Acidez del fruto	63	4,28	0,14	0,6	3,31
Número de frutos/ inflorescencia	63	5,04	1,06	5,0	21,17
Número de lóculos	63	2,04	0,42	1,0	10,65

n= número de accesiones. \bar{X} = media aritmética. S²= desviación estándar. r =rango. CV= Coeficiente de variación.

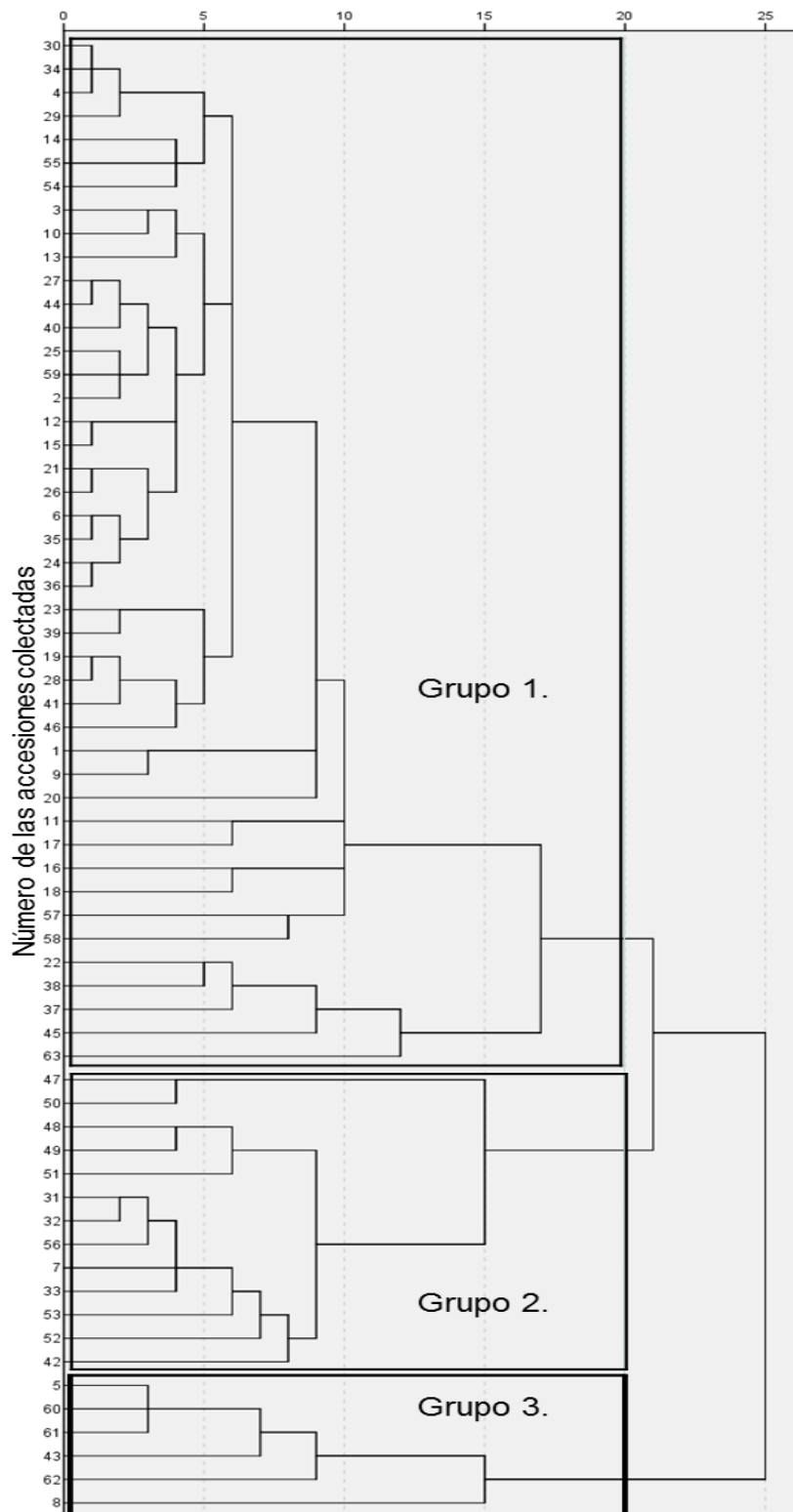


Figura 1. Análisis jerárquico de clusters. Dendograma generado con los agrupamientos promedios (entre grupos). Se utilizaron 13 variables cuantitativas evaluadas *ex situ*.