

Producción de poblaciones segregantes resistentes al pasador del fruto a partir de cruzamientos entre tomate y accesiones silvestres de *Lycopersicon* spp.

Production of segregating populations with resistance to the fruit borer from crosses between tomato and wild accessions of *Lycopersicon* spp.

Edwin F. Restrepo S.,¹ Franco A. Vallejo C.,² Mario Lobo A.³

RECIBIDO: DICIEMBRE 12/06. ACEPTADO: FEBRERO 16/07

¹. Biól. M.Sc. Doctor en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. AA 237. Palmira, Valle. efrestrepos@unaledu.co

². Ing. Agr. Ph.D. Universidad Nacional de Colombia. AA 237. Palmira, Valle. Autor para correspondencia. favallejoc@palmira.unal.edu.co

³. Ing. Agr. Ph.D. CORPOICA. La Selva.

RESUMEN

Se hicieron cruzamientos interespecíficos entre plantas de tomate *L. esculentum* y trece accesiones silvestres de *Lycopersicon* spp. resistentes al pasador del fruto. Se produjeron seis poblaciones híbridas que presentaron porcentajes bajos de eficiencia en el cruzamiento y de germinación de semilla y alta cantidad de semillas anormales. Se obtuvieron semillas de cuatro poblaciones RC₁ y cuatro poblaciones RC₂, las cuales presentaron porcentajes bajos de eficiencia de retrocruzamiento. Igualmente se produjeron semillas de tres poblaciones F₂ y dos poblaciones F₃ las cuales se obtuvieron de un número bajo de frutos en comparación con la alta cantidad de inflorescencias aisladas.

Palabras claves: Cruzamientos interespecíficos, retrocruzamiento, *Lycopersicon esculentum*, *Neoleucinodes elegantalis*, resistencia.

SUMMARY

Interspecific crosses between tomato plants *L. esculentum* and thirteen wild accessions of *Lycopersicon* spp. with resistance to the fruit borer were carried out. Six Hybrids population were produced which had low percentages of crossing efficiency and seed germination, and high amount of abnormal seeds. Seeds of four RC₁ populations and four RC₂ populations were obtained, which presented low percentages of backcrossing efficiency. Equally seeds of three F₂ populations and two F₃ population were produced which were obtained from a low number of fruits in comparison with the high amount of isolated inflorescences.

Key words: Interspecific crosses, backcrossing, *Lycopersicon esculentum*, *Neoleucinodes elegantalis*, resistance.

INTRODUCCIÓN

Los insectos plaga que limitan severamente la producción de tomate *Lycopersicon esculentum* en Colombia son el pasador del fruto *Neoleucinodes elegantalis*, el cogollero *Tuta absoluta*, la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* y *Liriomyza* sp. (Vallejo, 1999). En el 2000 el pasador del fruto *N. elegantalis* afectó 1.500 de las 1.725 ha sembradas en el Valle del Cauca (Varela, 2001). Actualmente causa pérdidas hasta del 70% en algunas zonas de este departamento.

Para lograr obtener una producción sostenible de tomate, el agricultor está recurriendo a prácticas de control químico severas, utilizando mezclas de insecticidas altamente tóxicos, en dosis y

frecuencias elevadas. Lo anterior está causando graves alteraciones en el ambiente, en la salud de quienes aplican estos productos y en la calidad de vida de los consumidores.

Ante la problemática planteada el Programa de Investigación “Mejoramiento Genético y Producción de Semillas de Hortalizas” de la Universidad Nacional Sede Palmira creó una línea de investigación con el objetivo de producir cultivares de tomate tipo chonto con resistencia varietal al pasador del fruto *N. elegantalis*. En la primera etapa se evaluaron en condiciones de campo 12 accesiones de *L. hirsutum* y *L. peruvianum*, las cuales presentaron resistencia de campo al pasador del fruto (Restrepo, Vallejo y Lobo, 2006).

La presente investigación, que corresponde a la segunda etapa del proyecto, tuvo como objetivo la producción de poblaciones segregantes a partir de cruzamientos interespecíficos entre plantas de tomate *L. esculentum* variedad Unapal Maravilla y las accesiones silvestres de *Lycopersicon* spp., identificadas como resistentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para generar la población híbrida F₁, en el Centro experimental de la Universidad Nacional sede Palmira se hicieron cruzamientos interespecíficos entre tomate *L. esculentum* variedad Unapal Maravilla y trece accesiones silvestres de *Lycopersicon* spp., mediante la emasculación de flores de las plantas de tomate y cruzamiento con polen obtenido de las accesiones silvestres (Tabla 1). Se evaluó la eficiencia

del cruzamiento, germinación de semilla, y cantidad de semilla normal y anormal.

Para la obtención de semilla de la población F₂ se trasplantaron 15 plántulas de las poblaciones híbridas Tx1, Tx2, Tx6 y Tx8. Se aislaron numerosas inflorescencias con el fin de garantizar la autofecundación, y se procedió a la cosecha de los frutos y al beneficio de la semilla.

El primer retrocruzamiento se realizó entre plantas de tomate Unapal Maravilla y las poblaciones híbridas Tx1, Tx2, Tx6 y Tx8. Por cada sistema de retrocruzamiento se sembró un surco de 20 plantas de tomate y otro de 15 plantas híbridas. Se emascularon varias flores de las plantas de tomate y se hizo el cruzamiento con polen obtenido de cada uno de los híbridos indicados. Se evaluó la eficiencia del retrocruzamiento, y la cantidad de semilla normal y anormal obtenida.

Tabla 1. Cruzamientos realizados entre la variedad de tomate Unapal Maravilla y trece accesiones silvestres de *Lycopersicon* spp.

Cruzamiento (Tomate <i>L. esculentum</i> x Acesión silvestre de <i>Lycopersicon</i> spp.)	Nomenclatura de cruzamiento	Número de cruzamientos
Tom. x PI 134417 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>glabratum</i>	T x 1	274
Tom. x PI 134418 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>glabratum</i>	T x 2	396
Tom. x PI 127826 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>typicum</i>	T x 3	217
Tom. x PI 127827 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>typicum</i>	T x 4	106
Tom. x PI 126445 de <i>L. hirsutum</i> var. I	T x 5	150
Tom. x PI 126449 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>glabratum</i>	T x 6	218
Tom. x LA 1264 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>typicum</i>	T x 8	156
Tom. x LA 1624 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>typicum</i>	T x 9	86
Tom. x LA 2092 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>typicum</i>	T x 10	94
Tom. x LA 1362 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>typicum</i>	T x 11	49
Tom. x LA 444-1 de <i>L. peruvianum</i> .	T x 12	42
Tom. x LA 0444 de <i>L. peruvianum</i> .	T x 13	42
Tom. x LA 1265 de <i>L. hirsutum</i> var. <i>typicum</i>	T x 22	107
Total		1937

Para la producción de semilla de la población F₃ se trasplantaron 15 plántulas de las poblaciones F₂ de los híbridos Tx1 y Tx2. Se aislaron numerosas inflorescencias de las poblaciones, y se procedió a la cosecha de los frutos y al beneficio de la semilla.

El segundo retrocruzamiento se realizó entre plantas de tomate Unapal Maravilla y las poblaciones RC₁ Tx(Tx1), Tx(Tx2) y Tx(Tx8). Por cada sistema de retrocruzamiento se sembró un surco de 20 plantas de tomate y otro de 20 plantas RC₁. Se hizo evaluación preliminar del daño causado por pasador en 5 racimos

del tercio inferior de cada una de las 20 plantas de las tres poblaciones RC₁.

Se seleccionaron como fuente de polen las plantas que presentaron menos del 5% de frutos afectados. Paralelamente se realizaron algunos retrocruzamientos recíprocos.

Se hicieron pruebas de viabilidad de polen en las seis plantas RC₁ seleccionadas como padres. La tinción se realizó con acetocarmín al 1%. Se evaluaron 1.000 granos de polen por planta

En las seis plantas RC₁ seleccionadas se hizo otra evaluación más completa (en condiciones de campo y de laboratorio) del daño causado por el pasador. Se seleccionaron otros 10 racimos por planta del tercio inferior y medio en los cuales se evaluó el número de orificios de entrada y de salida por fruto, número de larvas vivas y/o muertas dentro del fruto, longitud del eje polar y ecuatorial, formato y peso de fruto, y color del fruto maduro.

Se hizo un análisis descriptivo de la información utilizando promedios o porcentajes de las variables cuantitativas evaluadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Población híbrida F₁

De los 13 cruzamientos interespecíficos solo se produjo semilla híbrida cuando se cruzó tomate con seis accesiones de *L. hirsutum*, tres de la variedad *glabratum* y tres de la variedad *typicum* (Tabla 2). Los cruzamientos con dos accesiones de *L. peruvianum* no produjeron semilla híbrida, posiblemente por la existencia de una severa barrera de incompatibilidad. *L. peruvianum* pertenece al acervo genético terciario y por ende sólo es posible producir híbridos fértiles con tomate, cuando se utilizan técnicas como el cultivo de embriones y la hibridación somática (Rick, 1978 y 1980).

Se presentó baja eficiencia en el cruzamiento (entre 5.8 y 11.9%) (Tabla 2), probablemente porque *L. hirsutum* pertenece al acervo genético secundario y al cruzarse con *L. esculentum* se produce cierto grado de incompatibilidad. Ambas especies poseen el mismo número de cromosomas ($2n = 24$) (Rick, 1979) y baja divergencia de nucleótidos, lo cual indica relación estrecha (Nesbitt y Tasksley, 2002); sin embargo, existe cierto grado de incompatibilidad (Rick, 1979; Moyle y Graham, 2005).

La germinación de la semilla varió entre 6.9 y 57.5%, las semillas normales entre 82 y 320 y las anormales entre 24 y 219 (Tabla 2).

Poblaciones segregantes RC₁ y F₂

Las cuatro poblaciones RC₁ presentaron bajas eficiencias de retrocruzamiento (entre 6.5 y 9.1%) (Tabla 3), porque las células madres de los granos de polen tienen un complemento diploide conformado por similares proporciones de dos genomas con cierto grado de incompatibilidad (50% de *L. esculentum* y 50% de *L. hirsutum*), y por consiguiente, existe la posibilidad que durante la meiosis se hayan originado

algunos problemas de apareamiento de cromosomas o de segregación génica anormal, produciendo granos de polen inviábiles.

Moyle y Graham (2005) al estudiar la base genética de la incompatibilidad de híbridos entre *L. esculentum* y *L. hirsutum* encontraron reducción importante en la fertilidad del polen de las plantas híbridas en comparación con la de los progenitores, y la atribuyeron a proporción reducida de polen viable y a reducción en el número total de granos de polen.

Sólo se obtuvo semilla F₂ en tres de los cuatro híbridos F₁. La producción de semilla normal varió entre 163 y 164, y anormal entre 35 y 74 (Tabla 4). El número bajo de frutos se debió a que el híbrido interespecífico posee células con un complemento diploide de cromosomas conformado por dos genomas diversos, y el genoma de *L. hirsutum* es autoincompatible (Rick, 1979; Vallejo, 1999), y por ende existe la probabilidad de que genes de autoincompatibilidad en algunos de los gametos hayan impedido la autofecundación.

Poblaciones segregantes RC₂ y F₃

Para el segundo retrocruzamiento se seleccionaron por resistencia al pasador del fruto una planta de la población Tx(Tx1) y cinco plantas de la población Tx(Tx2). Estas plantas presentaron en cinco racimos del tercio inferior menos del 5% de frutos afectados.

Se obtuvo semilla RC₂ en cuatro de los seis retrocruzamientos directos (plantas de tomate usadas como progenitor femenino y plantas RC₁ como progenitor masculino), con una producción de semillas anormales que fluctuó entre 33 y 100 (Tabla 5). Solo se hicieron 15 retrocruzamientos directos con la única planta seleccionada de la población RC₁ Tx(Tx1), por la baja producción de inflorescencias.

Cuando se realizaron los retrocruzamientos recíprocos (plantas RC₁ usadas como progenitor femenino y plantas de tomate como progenitor masculino) no se obtuvo semilla. Para determinar la posibilidad de obtener semilla RC₂ a partir de retrocruzamientos recíprocos entre esas dos poblaciones, sería conveniente la realización de mayor cantidad de cruzamientos, pues en esta investigación solo se pudieron hacer aproximadamente 100.

Las cuatro poblaciones RC₂ presentaron eficiencias de retrocruzamiento más bajas (entre 0.8 y 2.1%) (Tabla 5) que las eficiencias de las poblaciones RC₁ (Tabla 3), porque las células madres de los granos de polen de las plantas RC₁ (que son uno de los dos padres de la población RC₂), además de estar conformadas por dos genomas con cierto grado de incompatibili-

Tabla 2. Eficiencia del cruzamiento, germinación de la semilla y número de semillas normales y anormales en las seis poblaciones híbridas interespecíficas.

Población híbrida F ₁ (Tomate <i>L. esculentum</i> x Accesoión de <i>L. hirsutum</i>)	Número de cruzamientos	Eficiencia del cruzamiento (%)	Número de semillas normales-anormales	Germinación de semilla (%)
Tom. x PI 134417 var. <i>glabratum</i> (T x 1)	274	11.7	320-219	21.5
Tom. x PI 134418 var. <i>glabratum</i> (T x 2)	396	6.3	279-119	32.7
Tom. x PI 127826 var. <i>typicum</i> (T x 3)	217	7.4	220-55	6.9
Tom. x PI 126445 var. <i>typicum</i> (T x 5)	150	6.0	111-33	11.5
Tom. x PI 126449 var. <i>glabratum</i> (T x 6)	218	11.9	432-187	57.5
Tom. x LA 1264 var. <i>typicum</i> (T x 8)	156	5.8	82-24	39.3

Tabla 3. Número de retrocruzamientos, eficiencia del retrocruzamiento, y cantidad de semilla normal y anormal, en cuatro poblaciones RC₁.

Población RC ₁ Tomate x (Tomate x Acce. de <i>L. hirsutum</i>)	Número de retrocruzamientos	Eficiencia del retrocruzamiento (%)	Número de semilla RC ₁ : normal-anormal
Tom.x (Tom.x PI 134417 var. <i>glabratum</i>) T x (T x 1)	274	8.0	363 – 113
Tom.x (Tom.x PI 134418 var. <i>glabratum</i>) T x (T x 2)	220	9.1	302 – 116
Tom.x (Tom.x PI 126449 var. <i>glabratum</i>) T x (T x 6)	230	6.5	429 – 133
Tom.x (Tom.x LA 1264 var. <i>typicum</i>) T x (T x 8)	210	8.1	102 – 30

Tabla 4. Número de inflorescencias aisladas en plantas F₁, número de frutos y cantidad de semilla normal y anormal, en tres poblaciones F₂.

Población F ₂	Número de inflorescencias aisladas en plantas F ₁	Número de frutos	Número de semilla F ₂ : Normal-anormal
F ₂ de T x 1	201	23	164 – 35
F ₂ de T x 2	179	45	315 – 74
F ₂ de T x 6	110	14	163 - 39

dad, tienen una proporción desigual de ambos (75% de tomate y 25% de *L. hirsutum*), lo cual incrementa las posibilidades de originar problemas de apareamiento de cromosomas o de segregación génica anormal, cau-

sando una probabilidad más alta de producir granos de polen inviábiles.

La viabilidad de polen en las cinco plantas RC₁ seleccionadas de la población T x (T x 2) para realizar

Tabla 5. Número de retrocruzamientos, eficiencia del retrocruzamiento, y cantidad de semilla normal, en seis retrocruzamientos directos realizados para producir poblaciones RC₂.

Retrocruzamientos directos	Número de retrocruzamientos directos	Eficiencia del retrocruzamiento (%)	Número de semilla RC ₂ normal
Tom x planta de RC1[Tom x (Tom x PI134417)] [Tom x planta 1 de T x (Tx1)]	15	0	0
Tom x planta 1 de RC1[Tom x (Tom x PI134418)] [Tom x planta 1 de T x (Tx2)]	185	1.6	100
Tom x planta 2 de RC1[Tom x (Tom x PI134418)] [Tom x planta 2 de T x (Tx2)]	108	0	0
Tom x planta 3 de RC1[Tom x (Tom x PI134418)] [Tom x planta 3 de T x (Tx2)]	125	0.8	33
Tom x planta 4 de RC1[Tom x (Tom x PI134418)] [Tom x planta 4 de T x (Tx2)]	234	2.1	75
Tom x planta 5 de RC1[Tom x (Tom x PI134418)] [Tom x planta 5 de T x (Tx2)]	132	1.5	38

Tabla 6. Viabilidad de polen en cinco plantas RC₁ seleccionadas de la población T x (T x 2), para la realización del segundo retrocruzamiento.

Planta seleccionada de la población: T x (T x 2)	Viabilidad de Polen (%)
Planta 1	76.0
Planta 2	48.0
Planta 3	76.3
Planta 4	70.9
Planta 5	76.8

el segundo retrocruzamiento fluctuó entre 48 y 76.8% (Tabla 6), que se pueden considerar bajas, pues para fecundar un gameto femenino en flores de tomate se requieren varios gametos masculinos. La alta producción de granos de polen inviables confirma la hipótesis expresada en el párrafo anterior y, por ende, puede ser la causa probable de la baja eficiencia de los retrocruzamientos. A la única planta que se seleccionó de la población T x (T x 1) no se le pudo hacer prueba de viabilidad de polen por la escasa producción de flores.

El daño causado por el pasador en diez racimos del tercio inferior y medio de las seis plantas RC₁ selec-

cionadas para la realización del segundo retrocruzamiento, varió entre 2.0 y 5.9%, y el número promedio de orificios de entrada de pasador por fruto por planta fluctuó entre 1 y 3. Se presentaron pesos promedios de fruto por planta entre 10.8 y 17.5 g; formatos de fruto redondo, chonto, ligeramente achatado o elipsoide, y colores de frutos maduros rojos o amarillos (Tabla 7).

En dos poblaciones F₂ se aislaron en promedio 200 inflorescencias y se obtuvieron entre 139 y 283 semillas F₃. Se produjeron pocos frutos a pesar de la alta cantidad de inflorescencias aisladas (Tabla 8).

Tabla 7. Frutos afectados por pasador del fruto por planta, número promedio de orificios de entrada por fruto afectado, peso promedio de fruto, formato de fruto y color del fruto maduro, de seis plantas RC₁ seleccionadas para la realización del segundo retrocruzamiento.

Planta RC ₁ seleccionada	Frutos afectados (%)	Número promedio de orificios de entrada por fruto afectado	Peso promedio de fruto (g)	Formato de fruto	Color del fruto maduro
Planta única de T x (T x 1)	2.3	3	15.4	LA	Rojo
Planta 1 de T x (T x 2)	3.8	1	11.2	Redondo	Rojo
Planta 2 de T x (T x 2)	2.6	2	17.6	Chonto	Rojo
Planta 3 de T x (T x 2)	2.2	1	10.8	Redondo	Amarillo
Planta 4 de T x (T x 2)	2.0	2	14.7	Redondo	Amarillo
Planta 5 de T x (T x 2)	5.9	3	17.5	Elipsoide	Rojo

LA: ligeramente achatado.

Tabla 8. Inflorescencias aisladas en las plantas RC₁, número de frutos producidos y cantidad de semilla normal obtenida, en dos poblaciones F₃.

Población F ₃	Número de inflorescencias aisladas en plantas RC ₁	Número de frutos	Número de semilla F ₃
F ₃ de T x 1	200	8	139
F ₃ de T x 2	201	32	283

CONCLUSIONES

Se obtuvo semilla híbrida únicamente cuando se cruzó *L. esculentum* con seis accesiones de *Lycopersicon hirsutum*, tres de la variedad *glabratum* y tres de la variedad *typicum*. Se presentó baja eficiencia en el cruzamiento, baja germinación de semilla y alta cantidad de semilla anormal.

Se produjo semilla RC₁ en los cuatro retrocruzamientos; sin embargo, se presentó baja eficiencia en el retrocruzamiento y alta cantidad de semilla anormal.

Se obtuvo semilla F₂ a partir de tres híbridos (Tx1, Tx2 y Tx6), del híbrido T x 8 no fue posible.

Se produjo semilla RC₂ únicamente en cuatro retrocruzamientos. La eficiencia de los retrocruzamientos fue baja.

Se obtuvo bajo número de frutos y de semillas F₃.

AGRADECIMIENTOS

Al programa de Investigación “Mejoramiento Genético y Producción de Semillas de Hortalizas” de la Universidad Nacional Sede Palmira, por el financiamiento de la tesis de doctorado en Ciencias Agropecuarias con énfasis en Fitomejoramiento y Producción de Semillas del primero de los autores.

BIBLIOGRAFÍA

- Moyle, L. C.; Graham, E. B. Genetics of hybrid incompatibility between *Lycopersicon esculentum* and *L. hirsutum*. *Genetics*. Vol. 169, No. 1 (2005); pp. 355–373.
- Nesbitt, T. C.; Tanksley, S. Comparative sequencing in the genus *Lycopersicon*: implications for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatoes. *Genetics*. Vol. 162, No. 1 (2002); pp. 365–366.
- Restrepo, E. F.; Vallejo, F. A.; Lobo, M. Evaluación de la resistencia al pasador del fruto *Neoleucinodes elegantalis* y caracterización morfoagronómica de germoplasma silvestre de *Lycopersicon* spp. *Acta Agron. (Palmira)*. Vol. 55, No. 1 (2006); p. 15-21.
- Rick, C. M. Evolution of interspecific barriers in *Lycopersicon*. Proc. Conf. Broadening. Genet. Base Crops. Wageningen. Pudoc, 1978.
- Rick, C. M. Biosystematic studies in *Lycopersicon* and closely related species in Solanum. *En: Hawkes, J. G.; Lester, R. N.; Skelding, A. D. (eds). The Biology and Taxonomy of the Solanaceae*. New York, 1979. pp. 667–678.
- Rick, C. M. Tomato. *In: Fehr, W. R.; Hadley, H. H. (eds). Hybridization of crop plants*. Madison, 1980. pp. 669-680.
- Vallejo, F. A. Mejoramiento genético y producción de tomate en Colombia. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 1999. 216 p.
- Varela, R.; Huertas, C.; Varon, F.; Estrada, J. F.; Valencia, D.; Gómez, C. E.; Jaramillo, C. Situación fitosanitaria de los principales sistemas de producción en el Valle del Cauca durante el año 2000. Palmira: ICA, 2001.