

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE GERMOPLASMA DE TOMATE PARA INDUSTRIA Y  
DETERMINACIÓN DE LOS COMPONENTES DE RESISTENCIA A  
MANCHA BACTERIANA RAZA T3**

por

**María Cecilia BERRUETA MOREIRA**

**TESIS presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de  
*Magister* en Ciencias Agrarias  
opción Ciencias Vegetales.**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
Agosto 2012**

Tesis aprobada por el tribunal integrado por la Dra. María Julia Pianzzola, el Dr. Leonardo Boiteaux y el Ing. Agr. MSc Pablo González, el 12 de Octubre de 2012. Autora: Ing. Agr. Cecilia Berrueta. Director Dr. Gustavo Giménez, Co-director Dr. Guillermo Galván.

## **AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA**

Agradezco a:

Mis tutores Gustavo Giménez y Guillermo Galván que hicieron enormes aportes a este trabajo.

Mis compañeros de trabajo del INIA que de alguna forma colaboraron en que pudiera realizar esta tesis: Matías González, Francisco Vilaró, Gustavo Rodríguez y Alberto Lenzi.

Alejandra Borges por el gran apoyo en el análisis estadístico y correcciones realizadas.

El INIA y la Facultad de Agronomía que me dieron la oportunidad de realizar la maestría.

Mi familia gran responsable e impulsor de mi formación.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS .....	III
RESUMEN .....	VII
SUMMARY .....	VIII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
1.1. CULTIVO DE TOMATE .....	1
1.2. MANCHA BACTERIANA DEL TOMATE .....	3
1.2.1. <u>Importancia económica y distribución geográfica</u> .....	3
1.2.2. <u>Biología y sintomatología</u> .....	4
1.2.3. <u>Agente causal</u> .....	6
1.2.4. <u>Manejo de la enfermedad</u> .....	9
1.3. RESISTENCIA GENÉTICA .....	10
1.3.1. <u>Resistencia basada en hipersensibilidad</u> .....	11
1.3.2. <u>Resistencia cuantitativa</u> .....	13
1.3.3. <u>Fuentes de resistencia a <i>Xanthomonas</i> spp. en tomate</u> ....	14
1.4. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA .....	15
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO .....	20
1.6. OBJETIVOS .....	21
2. <u>EVALUACIÓN DE GERMOPLASMA DE TOMATE PARA INDUSTRIA A CAMPO POR RESISTENCIA A MANCHA BACTERIANA DEL TOMATE RAZA T3 (<i>Xanthomonas perforans</i>)</u> .....	22
2.1. RESUMEN .....	22
2.2. SUMMARY .....	23
2.3. INTRODUCCIÓN .....	24
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	26
2.4.1. <u>Material vegetal</u> .....	26

2.4.2. <u>Cepa utilizada y preparación del inóculo</u> .....	27
2.4.3. <u>Condiciones de inoculación y diseño experimental</u> .....	27
2.4.4. <u>Evaluación de resistencia a mancha bacteriana</u> .....	28
2.4.5. <u>Análisis estadístico</u> .....	29
2.5. RESULTADOS .....	30
2.5.1. Ensayo 2010 .....	30
2.5.2. Ensayo 2011 .....	34
2.6. DISCUSIÓN .....	37
2.7. BIBLIOGRAFÍA .....	44
3. <u>COMPONENTES DE RESISTENCIA A MANCHA BACTERIANA RAZA T3 (<i>Xanthomonas perforans</i>) EN GENOTIPOS DE TOMATE EN CONDICIONES DE INVERNADERO Y CÁMARA DE CRECIMIENTO</u>	49
3.1. RESUMEN .....	49
3.2. SUMMARY .....	50
3.3. INTRODUCCIÓN .....	51
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	53
3.4.1. <u>Material vegetal</u> .....	53
3.4.2. <u>Cepa utilizada y preparación de inóculo</u> .....	54
3.4.3. <u>Componentes de resistencia en invernáculo</u> .....	54
3.4.4. <u>Componentes de resistencia en cámara de crecimiento</u> ..	56
3.4.5. <u>Monitoreo de la población bacteriana</u> .....	57
3.4.6. <u>Análisis estadístico</u> .....	58
3.5. RESULTADOS .....	58
3.5.1. <u>Componentes de resistencia en invernáculo</u> .....	58
3.5.2. <u>Componentes de resistencia en cámara de crecimiento</u> ..	60
3.5.3. <u>Monitoreo de la población bacteriana</u> .....	62
3.6. DISCUSIÓN .....	64
3.7. BIBLIOGRAFÍA .....	69
4. <u>DISCUSIÓN GENERAL</u> .....	73
4.1. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN .....	73

4.2. FUENTES DE RESISTENCIA .....	74
4.3. CONCLUSIONES GENERALES .....	75
5. <u>BIBLIOGRAFÍA GENERAL</u> .....	77

## RESUMEN

La mancha bacteriana afecta al tomate y morrón a campo en las regiones subtropicales y tropicales del mundo. La enfermedad es causada por cuatro especies del género *Xanthomonas* con cinco razas, T1, T2, T3, T4 y T5. En Uruguay predomina la raza T3. Dada la baja efectividad de las herramientas disponibles para el control de la enfermedad, ha adquirido gran interés la resistencia genética. Este trabajo se plantea con el objetivo de identificar fuentes de resistencia a la mancha bacteriana raza T3 en germoplasma de tomate para industria y determinar los componentes de resistencia. Para ello se evaluaron doce materiales a campo durante las temporadas 2010 y 2011. Se inoculó por asperjado una solución bacteriana ( $10^8$  ufc/ml). Se compararon los materiales por severidad en el follaje, incidencia en fruta y período de latencia. Los componentes de resistencia se determinaron en cámara de crecimiento e invernadero. Se inocularon plantas de 4 a 5 hojas y se midió el período de latencia, número de manchas por hoja y severidad en las hojas. Además se monitoreó la población bacteriana inoculando por infiltración ( $10^4$  ufc/ml). Loica fue el genotipo con mayor nivel de resistencia parcial a mancha bacteriana. Este material presentó niveles de severidad en hoja e incidencia en frutos similares al testigo resistente Hawaii 7981. Esta variedad tiene muchos años de selección en el país y gran adaptación a las condiciones agroecológicas locales. Las líneas LB 97, 76, 60, 99 y Ohio 8245 tuvieron niveles de resistencia intermedia mientras que LB 85, H 9997 y NUN 6011 fueron los materiales más susceptibles. La variable severidad presentó gran consistencia entre años lo que lo hace apropiado para la selección. De los componentes de resistencia considerados, el número de manchas y el monitoreo de la población bacteriana permitieron diferenciar genotipos. Sin embargo, el período de latencia no mostró diferencias entre los genotipos.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, resistencia parcial, fuentes de resistencia

## EVALUATION OF PROCESSING TOMATO GERMPLASM TO BACTERIAL SPOT RACE T3 AND CHARACTERIZATION OF RESISTANCE COMPONENTS

### SUMMARY

Bacterial spot affects tomato and pepper in tropical and subtropical regions of the world. The disease is caused by four species of the genus *Xanthomonas* with five races, T1, T2, T3, T4 and T5. In Uruguay T3 is the predominant race. Genetic resistance is important to control the disease because of the low efficiency of the other available tools. The main objective of the present study was to identify sources of resistance to bacterial spot race T3 in tomato for processing germplasm and to determine components of resistance. Twelve genotypes were evaluated under field conditions during season 2010 and 2011. The tomato plants were spray inoculated with a bacterial suspension ( $10^8$  cfu/ml) and were compared by disease severity, fruit incidence and latent period. The resistant components were determined in greenhouse and growth chamber. Plants with 4 to 5 leaves were inoculated to measure latent period, leaf spot number and disease severity. In addition, the bacterial population was monitored after inoculation by infiltration ( $10^4$  cfu/ml). Loica was the genotype with higher levels of partial resistance to bacterial spot race T3. This material showed low levels of severity and fruit incidence, similar to the resistant control (Hawaii 7981). Loica has many years of selection in the country and great adaptability to local environmental conditions. The lines LB 97, 76, 60, 99 and Ohio 8245 had intermediate levels of resistance while LB 85, H 9997 and NUN 6011 were the most susceptible. Disease severity showed great consistency between years, making it suitable for selection. The resistant components number of lesions and the bacterial population allowed differentiating genotypes. However, the latent period did not show differences among genotypes.

Keywords: *Solanum lycopersicum*, partial resistance, sources of resistance



## INTRODUCCIÓN

### 1.1. CULTIVO DE TOMATE

La producción de tomate en el mundo en el año 2009 fue de 152 millones de toneladas constituyendo la hortaliza más importante (Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2011). En Uruguay, el tomate es el segundo cultivo hortícola según su contribución al valor bruto de producción. En el año 2009 se produjeron 37022 toneladas. La mayor parte se destina al consumo en fresco. Del total de la producción, se procesaron industrialmente 8009 toneladas teniendo como principales destinos la pulpa tamizada (40%) y la pulpa triturada (29%) (Dirección de Estadísticas Agropecuarias (DIEA) 2010, FAO 2011).

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una planta originaria de América. Aunque el lugar original de domesticación es incierto, existe evidencia de que haya ocurrido en regiones que actualmente pertenecen a Méjico y Perú (Peralta y Spooner, 2006). El ancestro más probable del tomate cultivado es el tomate cherry salvaje (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*). El tomate es una especie autógena y diploide ( $2n=2x=24$ ) que alcanzó distribución mundial e importancia en el mejoramiento genético para consumo en fresco y como productos procesados. Además, es una planta usada como modelo para estudiar la base genética de las especies diploides debido a la ocurrencia de variabilidad natural dentro de la especie, a la autopolinización natural que permite la expresión de genes y mutaciones recesivas, a la posibilidad de controlar la hibridación dentro y entre las especies, a la ausencia de duplicación de genes y a la posibilidad de identificar fácilmente los doce cromosomas (Rick, 1978).

Los objetivos del mejoramiento en tomate se han centrado en dos áreas principales, la eficiencia productiva y la calidad del producto (Tigchelaar, 1986).

La heterosis en tomate ha sido citada para numerosos caracteres tanto relacionados a los componentes de rendimiento, precocidad, tolerancia a stress, calidad cosmética y nutricional de los frutos, así como para la vida post cosecha del producto. Actualmente, la mayoría de los cultivares disponibles comercialmente son híbridos (Atanassova y Georgiev, 2006).

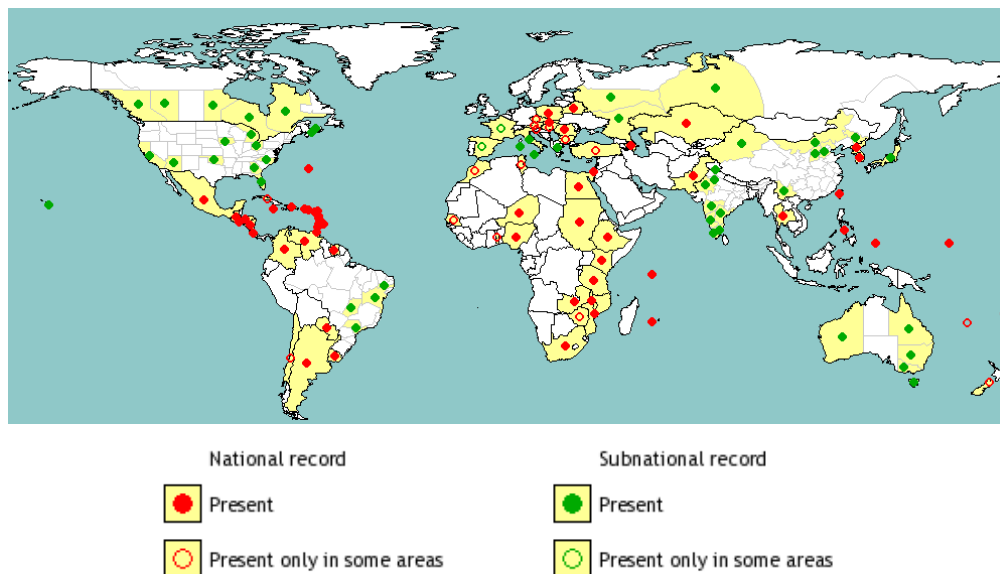
Algunos caracteres de herencia genética incorporados han significado un aporte importante para el mejoramiento de cultivares de tomate. Para el caso del tomate para industria el gen *sp* (*self-prunning*) fue fundamental para su desarrollo. El gen recesivo *sp* determina el hábito de crecimiento, produciendo dos o menos nudos entre inflorescencias. Este modo de crecimiento más compacto permite una floración concentrada que hace posible la cosecha mecánica del tomate para procesamiento industrial (Tigchelaar, 1986). Por otro lado, varios genes simples son responsables de la resistencia a numerosas enfermedades que afectan al cultivo de tomate. El carácter dominante de muchos de estos genes facilitó el desarrollo de híbridos resistentes a múltiples patógenos. La mayoría de estos genes se encontraron en especies salvajes relacionadas al tomate y fueron transferidos mediante retrocruzamientos sucesivos (Tigchelaar 1986, Yang y Francis 2006).

Dentro de las principales enfermedades que afectan al cultivo de tomate se destacan las causadas por bacterias, por los importantes perjuicios económicos que causan (Jones *et al.*, 1991). La mancha bacteriana del tomate causada por especies del género *Xanthomonas* es una de las más relevantes (Yang y Francis, 2006).

## 1.2. MANCHA BACTERIANA DEL TOMATE

### 1.2.1. Importancia económica y distribución geográfica

La mancha bacteriana del tomate es causada por varias especies del género *Xanthomonas* (Jones *et al.*, 2004). Esta enfermedad es muy importante en zonas tropicales y subtropicales, pero está presente en todas las áreas de producción de tomate a campo del mundo (Jones *et al.* 1995, European and Mediterranean Plant Protection Organization/ Centre for Agricultural Bioscience International (EPPO/CABI) 2006) (Figura 1).



**Figura 1.** Distribución geográfica de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) (EPPO/CABI, 2006).

La enfermedad causa pérdidas severas en el rendimiento de los cultivos y afecta la calidad del producto, cuando las condiciones son favorables para el desarrollo de la enfermedad. Las reducciones en el rendimiento se acentúan cuando la infección ocurre en plantas jóvenes (Jones *et al.*, 1991). Según Pohronezny y Volin (1983), en estudios realizados en Florida (Estados Unidos) se registraron pérdidas de 17 a 52 %

en el rendimiento, en función de si las infecciones ocurrían tardíamente o temprano en el ciclo del cultivo respectivamente. Estudios de la industria de tomate procesado de Estados Unidos consideran a la mancha bacteriana del tomate entre las cinco enfermedades más importantes del cultivo (Foster *et al.*, 1993).

En el Uruguay, la mancha bacteriana constituye la enfermedad más importante en años lluviosos y cálidos para el cultivo de tomate realizado a campo.

### 1.2.2. Biología y sintomatología

La mancha bacteriana afecta principalmente al cultivo de tomate y morrón. También puede afectar a otras solanáceas, entre las cuales hay especies no cultivadas (EPPO/CABI, 2006). Los síntomas se manifiestan en todos los órganos aéreos de la planta, incluyendo hojas, tallos, pecíolos, flores y frutos (Stall *et al.*, 2009). En las hojas, produce manchas pequeñas, negras, húmedas y circulares menores a 3 mm de diámetro. Luego estas manchas se vuelven más angulares con un centro traslucido y borde oscuro. Las manchas se rodean de un halo clorótico. En ataques severos las manchas coalescen formando áreas necróticas de mayor tamaño. En los frutos las infecciones comienzan como costras pequeñas y oscuras. Las mismas pueden rodearse de un halo blanquecino. Las lesiones pueden alcanzar un diámetro de 4 a 5 mm (Blancard 1992, Jones *et al.* 1991, Cerkauskas 2005). Solo los frutos inmaduros son sensibles a la enfermedad, siendo el período de mayor susceptibilidad desde el día 5 al 19 después del cuajado (Scott *et al.* 1989, EPPO/CABI 2006).

Las infecciones se favorecen en condiciones de fuertes lluvias, humedad elevada y temperaturas diarias y nocturnas altas (30 °C) (Diab *et al.* 1982, Cerkauskas 2005, Yang y Francis 2006). Según Marcuzzo *et al.*

(2009), la severidad de la enfermedad en el follaje es máxima a los 25 °C de temperatura y aumenta con los períodos de hoja mojada prolongados.

Las células bacterianas ingresan al tejido vegetal por estomas, heridas e hidatodes. A partir de estudios empleando microscopía óptica y electrónica de barrido se comprobó que luego de que las células de *Xanthomonas* llegan a la superficie de la hoja se ubican en la proximidad de los estomas. Luego ingresan por los mismos y por la base deteriorada de los tricomas. Tras la penetración las bacterias se localizan en las cámaras subestomáticas donde se multiplican y se diseminan por los espacios intercelulares (apoplasto) del parénquima esponjoso del mesófilo. Una vez en el apoplasto, las bacterias liberan enzimas que degradan las paredes celulares del parénquima vegetal. La cámara subestomática permite además la multiplicación de las bacterias y posterior salida a través del estoma acompañadas de secreciones de compuestos mucosos permitiendo la diseminación (Alippi, 1992).

Las bacterias pueden sobrevivir en restos vegetales enfermos, epifíticamente sobre superficies vegetales sin causar daño, en malezas de la familia de las solanáceas y por cortos períodos en la rizósfera del suelo (McGuire *et al.* 1991, Jones *et al.* 1991, EPPO/CABI, 2006).

La principal fuente de inóculo y vía de dispersión a largas distancias es la semilla enferma. La semilla infectada es responsable de introducir nuevas razas en regiones donde no estaban presentes (Stall *et al.*, 2009). La vía de diseminación más importante en distancias cortas es el agua de lluvia o el riego por aspersión. También se dispersa mecánicamente a través de herramientas o las manos durante las operaciones sobre el cultivo (EPPO/CABI, 2006).

### 1.2.3. Agente causal

*Xanthomonas* spp. corresponden a bacterias Gram negativas, baciliformes de 0,7 - 1,0 x 2,0 – 2,4 µm., aeróbicas estrictas. Presentan movilidad dada por un flagelo polar y pueden formar cápsulas que actúan como estructuras de resistencia ante condiciones adversas (dispersión en el tiempo). En medio de cultivo YDC (Yeast Dextrosa CaCO<sub>3</sub>), las colonias son amarillas brillosas, circulares y de borde entero (Doidge 1921, Jones *et al.* 1991).

El agente causal de la mancha bacteriana del tomate fue descrito por primera vez por Doidge (1921). El patógeno identificado fue encontrado en África del Sur y fue denominado *Bacterium vesicatorium*. El nombre de la especie fue atribuido por la capacidad de producir vesículas en las células del hospedero durante el proceso de patogénesis. El patógeno fue descubierto el mismo año por Gardner y Kendrick en Estados Unidos, denominando al patógeno como *Bacterium exitiosum* (Gardner y Kendrick, 1921). Sin embargo, dada la similitud entre los organismos descritos y la publicación anterior de Doidge, permaneció el nombre adjudicado por la última.

Posteriormente, estas bacterias se clasificaron como *Xanthomonas vesicatoria* y luego como *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* (Jones *et al.*, 2005). Estudios taxonómicos posteriores revelaron que más de una especie estaba involucrada en las epidemias. Se distinguieron cuatro grupos fenotípicos A, B, C y D (Jones *et al.*, 2000) (Cuadro 1). La clasificación se basó en el metabolismo del carbono, actividad enzimática, test serológicos, perfiles de RFLP y comparaciones de secuencias de genes del ARNr y espacios intragenéticos (Bouzar *et al.* 1994, Jones *et al.* 2000). Jones *et al.* (2004) realizaron una reclasificación de las *Xanthomonas* asociadas a la mancha bacteriana en tomate y morrón utilizando técnicas basadas en hibridación de ADN-ADN. Se distinguieron cuatro especies que se

denominaron *Xanthomonas vesicatoria*, *Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas perforans* y *Xanthomonas gardneri* (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Especies de *Xanthomonas* causantes de la mancha bacteriana del tomate, grupos fenotípicos y sus características asociadas (Jones *et al.*, 2004).

Especie	Grupo fenotípico	Mab <sup>1</sup>	Proteína <sup>2</sup>	PFGE <sup>3</sup>	Actividad amilolítica <sup>4</sup>	Hidrólisis de Pectato <sup>4</sup>
<i>X. euvesicatoria</i>	A	1,21	32 kDa	A	- <sup>5</sup>	-
<i>X. vesicatoria</i>	B	8,15	27 kDa	B	+	+
<i>X. perforans</i>	C	30	27 kDa	C	+	+
<i>X. gardneri</i>	D	8	27 kDa	D	-	-

<sup>1</sup>Anticuerpo monoclonal (Bouzar *et al.* 1994, Jones *et al.* 2000)

<sup>2</sup>Patrón proteico (Bouza *et al.*, 1994)

<sup>3</sup>Grupos de pulsed field gel electrophoresis (Jones *et al.*, 2000)

<sup>4</sup>+ = hidrólisis de almidón y pectato visible en menos de dos días (Bouzar *et al.*, 1994)

<sup>5</sup>Algunos aislamientos de Mejiro y Ohio (Estados Unidos) son positivos para actividad amilolítica (Bouzar *et al.*, 1994)

Además de las cuatro especies y grupos fenotípicos encontrados se agrega la presencia de distintas razas. Las razas se denominan T1, T2, T3, T4 y T5 (Stall *et al.*, 2009).

La raza T1 pertenece a la especie *X. euvesicatoria* y al grupo fenotípico A (Jones *et al.*, 2004). T1 produce una reacción de hipersensibilidad al ser inoculada por infiltración en la línea Hawaii 7998 (*S. lycopersicon*) (Jones y Scott, 1986).

La raza T2 pertenece a las especies *X. vesicatoria* y *X. gardneri* y a los grupos fenotípicos B y D (Jones *et al.*, 2004). T2 no produce una reacción de hipersensibilidad al ser inoculadas por infiltración en ninguna de las plantas diferenciales utilizadas para identificar razas.

Las razas T3, T4 y T5 pertenecen a la especie *X. perforans* y al grupo fenotípico C (Jones *et al.*, 2004). T3 produce hipersensibilidad al ser

inoculada por infiltración en Hawaii 7981 (*S. lycopersicum*), PI 126932 y PI 128216 (*S. pimpinellifolium*) (Jones *et al.*, 1995). Luego de la aparición de la raza T3 en 1991 en Florida (Estados Unidos) la raza T1 fue desplazada antes de que se liberara la primera variedad con resistencia a T1. El principal motivo del desplazamiento fue que T3 es más competitiva que T1 para colonizar la planta (Quezado-Duval y Camargo, 2004). Se ha observado que T3 produce sustancias bacteriocinas antagonistas de T1 (El-Morsy *et al.* 1994, Jones *et al.* 1998, Hert *et al.* 2005). La raza T3 presenta también más agresividad en el campo (Jones *et al.*, 1998). La raza T4, surge como una mutación de T3 en el gen *avrXv3* (Minsavage *et al.*, 2003). El gran desplazamiento de T3 por T4 se confirmó en estudios realizados en el 2006 en Florida (Estados Unidos), donde el 77% de los aislamientos colectados correspondió a la raza T4 y el resto a T3 (Stall *et al.*, 2009). T4 produce una reacción de hipersensibilidad al ser inoculada en LA716 (*S. pennellii*) (Astua Monge *et al.*, 2000). La raza T5 surge de una mutación en los genes *avrXv3* y *avrXv4* (Minsavage *et al.*, 2003).

Para distinguir las razas se utiliza un set de plantas diferenciales. Mediante la inoculación por infiltración de una suspensión bacteriana del aislamiento problema en el set de plantas es posible identificar la raza a la que corresponde (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Set de plantas diferenciales para razas de *Xanthomonas* spp. causantes de la mancha bacteriana en tomate (Quezado-Duval, 2008).

Raza	Planta indicadora				
	Bonny Best	Hawaii 7998	Florida 216	<i>S. pennellii</i>	<i>S. pennellii</i> x H7998
	Reacción <sup>1</sup>				
T1	S	RH	S	S	S
T2	S	S	S	S	S
T3	S	S	RH	RH	RH
T4	S	S	S	RH	RH
T5	S	S	S	S	RH

<sup>1</sup>RH:Reacción de hipersensibilidad; S: Susceptible



Montelongo (2012), utilizó una colección de 86 aislamientos obtenidos a partir de muestras con síntomas de la enfermedad de distintos departamentos del Uruguay para determinar las razas que se encontraban presentes. Se utilizó la técnica de inoculación en un set de plantas diferenciales. A partir de este trabajo se determinó que la raza predominante en Uruguay es la T3, constituyendo el 86 % de los aislamientos colectados. La raza T4 y T2 por su parte constituyeron el 9 y 5 % de las accesiones colectadas respectivamente.

#### 1.2.4. Manejo de la enfermedad

Para el manejo de la mancha bacteriana se recomienda un enfoque integrado utilizando control químico, prácticas culturales, desinfección de semillas, control biológico y uso de variedades resistentes (Blancard 1992, Jones *et al.* 1991).

La desinfección de semillas es un método que permite reducir el inóculo inicial pero se ha probado que esta práctica por si sola es insuficiente para el control de la enfermedad (Stall *et al.*, 2009).

El control químico se basa en la aplicación de productos a base de cobre. La efectividad es baja, debido a que el control químico solo permite mantener bajos niveles de infección cuando se comienza a aplicar en etapas iniciales del desarrollo de la enfermedad. Además, se ha comprobado que la bacteria genera resistencia genética al cobre a través de mutaciones en el plásmido (Marco y Stall 1983, Bender *et al.* 1990). Se recomienda aplicar cobre junto con etilenbisditiocarbamatos para minimizar la generación de resistencia al cobre (Canover y Gerhold, 1981). El uso de Streptomicina no se recomienda debido a la rápida generación de resistencia de las bacterias a este compuesto (Thayer y Stall, 1962). Estudios realizados en Uruguay por Montelongo (2012) revelan que la mayoría de los aislamientos colectados

presentan resistencia in vitro a los cúpricos y a los antibióticos utilizados comercialmente (Kasungamicina).

Se recomienda incorporar al manejo prácticas culturales como rotación con cultivos no huéspedes, favorecer descomposición de restos enfermos, control de malezas hospederas, desinfección de herramientas y evitar riego por aspersión (Cerkauskas, 2005).

El control de la enfermedad no es efectivo una vez que la epidemia comenzó. La baja efectividad se debe a las múltiples fuentes de inóculo, múltiples especies y razas que causan la enfermedad, eficiencia reducida de los compuestos químicos disponibles, rápida generación de resistencia a los compuestos químicos y falta de resistencia genética en los cultivares comerciales (Yang y Francis, 2006). La eficiencia de los tratamientos se basa en la prevención.

Dado que las herramientas disponibles para el control de la enfermedad son limitadas y de baja efectividad, la resistencia genética de la planta hospedera adquiere gran interés como alternativa para limitar el avance de la enfermedad y minimizar las pérdidas económicas (Stall *et al.*, 2009).

### 1.3. RESISTENCIA GENÉTICA

La resistencia genética es una estrategia de las plantas para defenderse de los patógenos que las afectan (Niks y Lindhout, 2004). En el caso de *Xanthomonas* spp. la mejora genética para incorporar resistencia a las variedades de tomate de uso comercial es de gran interés debido a la baja efectividad que ofrece el control químico de la enfermedad (Stall *et al.*, 2009).

### 1.3.1. Resistencia basada en hipersensibilidad

Para el caso de *Xanthomonas* spp. existen varios genes conocidos que confieren resistencia por hipersensibilidad a distintas razas de forma específica.

Jones y Scott (1986) encontraron que la línea Hawaii 7998 producía una reacción de hipersensibilidad (RH) cuando era inoculada por infiltración con la bacteria causal de la mancha bacteriana. Esta resistencia es efectiva contra la raza T1 (Scott y Jones 1989, Wang *et al.* 1994). Mediante cruzamientos de la línea resistente con líneas susceptibles y posterior retrocruzamiento y evaluación de la progenie se comprobó que la resistencia estaba dada por tres regiones no dominantes del genoma denominadas *rx1*, *rx2* y *rx3*. Se elaboró un mapa de ligamiento con marcadores moleculares y se estableció que dos de los genes estaban ubicados en distintas partes del cromosoma 1 (*rx1* y *rx2*) y el otro en el cromosoma 5 (*rx3*) (Yu *et al.*, 1995). Según estudios de QTL realizados por Yang *et al.* (2005b), *rx3* explicó el 41 % de la variación de resistencia en una progenie segregante, mientras que *rx1* no tuvo relevancia en las diferencias de resistencia. No se encontraron marcadores moleculares ligados al *rx2*. En este estudio no se encontró una clara correlación entre la hipersensibilidad y la resistencia de campo. Además, Somodi *et al.* (1996) comprobó la baja correlación entre la resistencia de campo y la reacción de hipersensibilidad ( $r = 0,20$  a  $0,34$ ). Esto puede deberse a que la hipersensibilidad no está involucrada en la resistencia de campo, o que hay otros genes que no tienen que ver con la hipersensibilidad presentes en Hawaii 7998 y que afectan la correlación (Stall *et al.*, 2009).

La raza T3 produce RH al ser inoculada por infiltración en plantas de Hawaii 7981, PI 126932 y PI 128216 (Jones *et al.*, 1995). Estudios posteriores realizados por Scott *et al.* (1996) revelaron que la respuesta de hipersensibilidad en Hawaii 7981 está controlada por un gen con dominancia incompleta que se denominó *Xv3*. Sin embargo, Scott *et al.* (2001)

presentaron evidencia de que otros genes además de *Xv3* están involucrados en la resistencia de campo de Hawaii 7981 a la raza 3. La presencia de varios genes dificulta la transferencia de la resistencia a cultivares comerciales (Scott *et al.*, 2001). Para el caso de PI 128216 se detectó un locus ubicado en el cromosoma 11 que provee resistencia por hipersensibilidad que se denominó *Rx-4*. Este gen tiene un efecto aditivo y aporta resistencia en invernadero y a campo, siendo variable según el background genético (Robbins *et al.*, 2009).

Antes de que el gen *Xv3* fuera transferido a variedades comerciales surgió otra raza denominada T4, la cual era patogénica en plantas que contenían el gen *Xv3* (Astua-Monge *et al.*, 2000). A nivel comercial, no había variedades resistentes por lo que surge la hipótesis de que el quiebre de resistencia podría deberse a que el tomate uva (originado a partir de *S. pimpinellifolium*) se planta comercialmente en Florida (Estados Unidos). Este tomate tiene RH al ser inoculado y presenta el gen *Xv3*. Aparentemente estos tipos de tomate son los responsables de generar la presión de selección que concluyó en el quiebre de la resistencia (Stall *et al.*, 2009).

La raza T4 produce RH en plantas de *S. pennellii* LA716, la cual también presenta RH al ser inoculada con la raza T3. El gen de resistencia a la raza 4 se denominó *Xv4* y es de carácter dominante (Astua-Monge *et al.*, 2000). Además, el gen se encuentra en el brazo corto del cromosoma 3 y se cuenta con marcadores ligados al mismo (Stall *et al.*, 2009).

En resumen, desde los años sesenta se ha trabajado a nivel mundial en la búsqueda de genes mayores de resistencia con el fin de incorporarlos a las variedades comerciales por parte de los programas de mejoramiento. Sin embargo, debido a la gran diversidad del agente causal y su gran capacidad de mutar y superar las barreras genéticas que se le imponen no se han obtenido variedades con resistencia efectiva y duradera. Por este motivo, ha cobrado relevancia la resistencia parcial o cuantitativa para lograr

variedades con resistencia más estable en el tiempo (Yang *et al.* 2005b, Stall *et al.* 2009).

### 1.3.2. Resistencia cuantitativa

La resistencia derivada de genes mayores presenta baja durabilidad debido a la gran capacidad de mutar del patógeno. Por esto, se ha incrementado el interés de incorporar resistencia parcial a varias razas que presente mayor estabilidad en el tiempo (Scott *et al.* 2006, Yang y Francis 2006, Stall *et al.* 2009).

Scott *et al.* (1997) reportaron que PI 114490 (*S. lycopersicum* var. *cerasiformae*) presenta resistencia parcial a tres razas de la bacteria (T1, T2 y T3) en ensayos de campo. Este material es un cherry de crecimiento indeterminado y fruta amarilla. Estudios de herencia de la resistencia a T2 (cruzamiento entre PI 114490 y parentales susceptibles y posterior evaluación de la segregación de F2 y retrocruzamientos) revelan que el modelo que más se ajusta es el de dos loci de efecto aditivo. Además, los materiales de la progenie seleccionados por resistencia a T2 resultan también resistentes a T1 y no así a T3. Esto indicaría que la resistencia a T3 no está determinada por los mismos genes que la resistencia a T1 y T2 (Scott *et al.*, 2003). Estudios posteriores identificaron un QTL en el cromosoma 11 que explica la mayor parte de la variación en la resistencia a T1, T2, T3 y T4 (Yang *et al.* 2005a, Hutton *et al.* 2010). Otro QTL en el cromosoma 1 explica entre 3 y 11 % de la variación de resistencia a T2, T3 y T4 (Yang *et al.* 2005a). Hutton *et al.* (2010) encontraron un QTL en el cromosoma 3, que explica el 4.8 % de la variación de resistencia a la raza T4. Además, se identificaron otros QTL menores que colectivamente influyen en la resistencia (Yang *et al.* 2005a, Hutton *et al.* 2010).

Scott *et al.* (2006) evaluaron 16 genotipos según resistencia a la raza T4, midiendo severidad en hojas a campo. Las accesiones PI 114490 y PI

128216-T2 presentaron menos severidad que los testigos susceptibles. La línea Fla 8517 que tiene a PI 114490 y PI 128216-T2 en su pedigree, presentó buen nivel de resistencia en comparación con el testigo susceptible, lo que indica que es posible que contenga genes de resistencia parcial de ambas líneas. Las líneas Fla 8326 y Fla 8233 que tienen en su pedigree a PI 126932 y PI 114490 respectivamente, también presentaron niveles de resistencia parcial a T4.

Estudios realizados por Mendez de Souza *et al.* (2008) revelan que la línea de mejoramiento UENF 157 evaluada en invernadero en Brasil se destacó por su buen nivel de resistencia a las razas T1, T2 y T3 del patógeno. Además, UENF 158 presenta resistencia parcial a T2. Para caracterizar la resistencia se consideró la severidad en hoja, el período de latencia y el área debajo de la curva de progreso de la enfermedad. Lugon Lima *et al.* (2005) evaluaron 16 genotipos de tomate en condiciones de invernadero en base al período de latencia de la enfermedad. UENF 154, UENF 159 y UENF 160 se destacaron por manifestar resistencia conjunta a raza T2 y T3.

### 1.3.3. Fuentes de resistencia a *Xanthomonas* spp. en tomate

Se han encontrado múltiples fuentes de resistencia para las distintas razas de *Xanthomonas* spp. que afectan al tomate. Algunas resistencias están basadas en la reacción de hipersensibilidad y otras son de carácter cuantitativo y presumiblemente de base poligénica. El origen de la resistencia es variado proviniendo de al menos tres especies, *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium* y *S. pennellii*. En el Cuadro 3 se presentan de manera resumida las distintas fuentes de resistencia disponibles.

**Cuadro 3.** Fuentes de resistencia a mancha bacteriana del tomate.

Fuente de resistencia		Raza					
Genotipo	Especie	T1	T2	T3	T4	T5	
Hipersensibilidad	Hawaii 7998	<i>S.</i> <sup>1</sup> <i>lycopersicum</i>	RH <sup>2</sup>	S <sup>3</sup>	S	S	S
	Hawaii 7981	<i>S. lycopersicum</i>	S	S	RH	S	S
	LA 716	<i>S. pennellii</i>	S	S	RH	RH	S
	PI128216	<i>S. pimpinellifolium</i>	S	S	RH	S	S
	PI126932	<i>S. pimpinellifolium</i>	S	S	RH	S	S
	<i>S. pennellii</i> x Hawaii 7998		S	S	RH	RH	RH
Resistencia a campo	PI 114490	<i>S. lycopersicum</i>	R <sup>4</sup>	R	PR <sup>5</sup>	R	-
	PI 128216	<i>S. pimpinellifolium</i>	-	-	R	-	-
	Fla 8233	<i>S. lycopersicum</i>	PR	PR	PR	PR	-
	Fla 8326	<i>S. lycopersicum</i>	PR	PR	PR	PR	-
	Fla 8517	<i>S. lycopersicum</i>	-	-	-	R	-
	UENF 157	<i>S. lycopersicum</i>	PR	PR	PR	-	-
	UENF 158	<i>S. lycopersicum</i>	S	PR	S	-	-
	UENF 154, 159, 160	<i>S. lycopersicum</i>	S	PR	PR	-	-

<sup>1</sup> S.: *Solanum*

<sup>2</sup> RH: Reacción de hipersensibilidad

<sup>3</sup> S: Suceptible

<sup>4</sup> R: Resistente a campo

<sup>5</sup> PR: Parcialmente resistente a campo

Para lograr un control efectivo y durable de la enfermedad es indispensable combinar en las variedades comerciales resistencia genética de distintos tipos (completa e incompleta) a las distintas razas del patógeno (Scott *et al.* 2006, Stall *et al.* 2009).

#### 1.4. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA

Para la selección de cultivares resistentes a enfermedades por parte de los programas de mejoramiento genético se requiere una evaluación permanente de germoplasma. La técnica de inoculación y el método de

cuantificación de los síntomas influyen directamente sobre los resultados obtenidos en las evaluaciones de genotipos (Yang y Francis, 2006).

Para el caso de mancha bacteriana del tomate el método de inoculación para evaluar reacción de hipersensibilidad es la infiltración de una suspensión de bacterias por el envés de las hojas. Para evaluar colonización, crecimiento bacteriano y establecimiento de epidemias a campo se usa inmersión o aspersión de plantas jóvenes con una suspensión bacteriana (Menezes dos Santos, 1999). El inóculo se produce obteniendo crecimiento bacteriano en medio de cultivo de 48 horas a 28 °C. Luego se obtiene una suspensión de  $10^8$  ufc/ml.

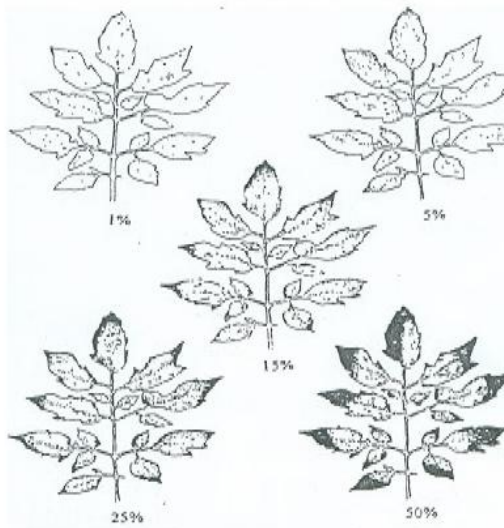
Para evitar los grandes ensayos a campo, que implican un gran uso de recursos, tiempo y espacio, se han desarrollado técnicas de inoculación en invernadero y en condiciones controladas. Se han probado varios métodos entre los cuales se destaca la inoculación por asperjado de plántulas en invernadero (Somodi *et al.*, 1994) y la infección a través de la inmersión de los cotiledones de las plántulas en una suspensión de bacterias (Emmatty *et al.*, 1982). Sin embargo, la correlación entre los resultados de ensayos a campo y los ensayos en condiciones controladas son variables. Para el caso de inmersión de cotiledones la correlación no es significativa. En el caso de asperjado de plantas en invernadero las correlaciones son bajas pero significativas (Somodi *et al.* 1994, De Mello *et al.* 1997a, Silva *et al.* 1998). Por esto, se recomienda siempre mantener los ensayos de campo que determinan con más precisión el fenotipo del que se trata (Stall *et al.*, 2009). De lo contrario, se puede llegar a descartar erróneamente en los test de invernadero, materiales que son valiosos a campo (De Mello *et al.* 1997a, Silva *et al.* 1998).

La mejor diferenciación de genotipos por la técnica de asperjado de plantas en invernadero se logró cuando se usó una concentración de células de  $10^8$  ufc/ml y plantas de 15 días de edad. Además, tratamientos previos a



la inoculación con 16 a 24 horas de humedad relativa del 100% mejoran la discriminación de genotipos (Somodi *et al.*, 1994).

En el campo, las plantas se comparan con escalas de severidad de la enfermedad en hojas. Entre las escalas más usadas se encuentra la escala de Horsfall y Barratt (1945). La misma consta de doce categorías que corresponden a niveles crecientes de porcentaje de tejido afectado por la enfermedad (severidad) en la hoja. Otra escala disponible es la escala diagramática para mancha bacteriana de tomate desarrollada por De Mello *et al.* (1997b). La misma tiene como ventaja que el diagrama ayuda a la rápida determinación del nivel de infección de una hoja, lo que facilita el trabajo cuando se tiene un gran número de genotipos para evaluar. Esta escala tiene cinco categorías que representan niveles crecientes de tejido foliar afectado (Figura 2).



**Figura 2.** Escala diagramática para evaluar porcentaje de área foliar infectada por *Xanthomonas* spp. en tomate (De Mello *et al.* 1997b).

En algunos casos se incorpora la evaluación de daño en frutos. Esta información permite identificar materiales que son susceptibles en follaje

pero manifiestan resistencia en frutos. Scott *et al.* (1989) aportó evidencia de que la resistencia en hoja y frutos está controlada por distintos genes. Por lo tanto, considerar la resistencia en frutos es de interés para los programas de mejoramiento (Scott y Jones 1986, Scott *et al.* 1989).

La resistencia puede ser evaluada también por medio de la cuantificación de los componentes de resistencia parcial en condiciones de ambiente controlado. Esta metodología se recomienda para las enfermedades de herencia cuantitativa (Van Der Plank 1963, Somodi *et al.* 1991, Silva-Lobo *et al.* 2005). El proceso de una infección monocíclica consiste en una sucesión de eventos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos denominados componentes del ciclo de la enfermedad. Cada paso o evento es cuantificable (Zadoks y Shein, 1979). La reducción en el crecimiento del patógeno en cada etapa del ciclo de la enfermedad puede ser considerada una forma de resistencia parcial (Zadoks, 1997). Estos componentes de resistencia parcial se pueden medir como frecuencia de infección, período de latencia y producción de esporas (Parlevliet, 1979).

Los componentes de resistencia que son relevantes dependen del patosistema del que se trate (Niks y Lindhout, 2004). Estos incluyen al número, tamaño y tipo de lesión, tamaño y frecuencia de estomas, período de latencia, período de infección, período de incubación, producción de esporas y monitoreo de la población bacteriana (Van Der Plank 1963, Parlevliet 1979, Somodi *et al.* 1991, Silva-Lobo *et al.* 2005). Para los patosistemas que incluyen a las bacterias como agentes causales de la enfermedad, los componentes más relevantes son el número y tamaño de lesión, frecuencia de estomas, período de latencia y monitoreo de la población bacteriana (Silva-Lobo *et al.*, 2005).

El número de lesiones o frecuencia de infecciones, se refiere al número de infecciones bacterianas exitosas. Este componente indica el nivel de resistencia en la etapa de penetración y colonización del tejido. El número de lesiones no solo es variable según el genotipo hospedero sino también

por el estado de desarrollo del huésped y las condiciones ambientales (Parlevliet 1979, Ribeiro do Vale *et al.* 2001).

La frecuencia, el tamaño y otras características de los estomas se asocian a la fase de penetración del patógeno en el tejido vegetal (Huang, 1986). Ramos *et al.* (1992) encontraron una correlación positiva y alta entre la frecuencia ( $r = 0,70$ ) y tamaño de los estomas ( $r = 0,68$ ) de distintas especies de *Lycopersicum* y el número de lesiones de mancha bacteriana por superficie de hoja.

El período de latencia es el tiempo entre la inoculación y los primeros síntomas visibles de la enfermedad (Parlevliet 1979, Ribeiro Do Vale *et al.* 2001). Generalmente, la correlación entre el período de latencia y el número de manchas es negativa (Silva-Lobo *et al.*, 2005). Para evaluar correctamente el período de latencia las plantas deben estar en el mismo estado de desarrollo. Este parámetro es especialmente importante en las enfermedades que necesitan muchos ciclos para completar la epidemia (Parlevliet, 1979).

El tamaño de las lesiones se mide como área, longitud o diámetro de las lesiones. Este componente refleja la tasa de multiplicación del patógeno en el tejido, que ocurre en la etapa de colonización (Parlevliet, 1979). El tamaño de lesión es difícil de medir cuando se trabaja con lotes grandes de plantas (Silva-Lobo *et al.*, 2005).

El monitoreo de la multiplicación del patógeno en la planta hospedera es utilizado para diferenciar genotipos según su nivel de resistencia. El monitoreo puede realizarse sobre la población epifítica sobre las hojas, en lesiones o dentro del tejido vegetal antes de la manifestación visible de los síntomas (Marcuzzo, 2009). La tasa de multiplicación epifítica de las bacterias se relaciona con un mecanismo de resistencia del hospedero que impacta sobre la dispersión de la bacteria en el cultivo y sobre la velocidad para lograr niveles que permitan la infección (McGuire *et al.*, 1991). La población bacteriana en lesiones está altamente correlacionada con la

resistencia a campo de los genotipos (Somodi *et al.*, 1991). Antes de la presencia de síntomas visibles el crecimiento de la población bacteriana también se correlaciona con el nivel de resistencia a campo (Silva-Lobo *et al.*, 2005). Una vez dentro del tejido vegetal los mecanismos de resistencia están vinculados con la limitación de nutrientes esenciales, presencia de inhibidores preformados o inducidos por la bacteria como propuso Chand y Walker (1964).

La determinación de componentes no es frecuentemente utilizada para seleccionar germoplasma por resistencia a una enfermedad. La principal razón es lo laborioso que resulta su determinación y que no siempre es más exacto que las mediciones a campo (Parlevliet 1979, Ribeiro do Vale *et al.* 2001). Sin embargo, los componentes de la resistencia permiten explicar mejor las causas de las diferencias entre los genotipos. Además, los distintos componentes pueden estar controlados por genes diferentes y la recombinación de los distintos genes mediante hibridación en los programas de mejoramiento, puede resultar en mayor nivel de resistencia genética y más durable (Zadoks 1997, Silva-Lobo *et al.*, 2005).

## 1.5. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

En el Uruguay, se viene desarrollando desde el año 2005 un proyecto nacional de mejoramiento de tomate para industria en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA). El proyecto tiene como objetivo generar variedades adaptadas a las condiciones de producción del país teniendo en cuenta caracteres como rendimiento, calidad industrial de la fruta y resistencia a enfermedades. En lo que refiere a la mejora por resistencia se ha hecho especial énfasis en la mancha bacteriana del tomate debido a la baja efectividad de las herramientas de control. Montelongo (2012), realizó una colección e identificación de aislamientos de *Xanthomonas* spp. a partir de tomate y morrón en el Uruguay. A partir de este estudio se determinó que la raza T3 (*Xanthomonas perforans*)

predomina en el país. En este marco, se plantea este trabajo con el fin de identificar fuentes de resistencia a la raza T3 empleando distintos métodos de evaluación de materiales para mejorar la selección por resistencia a la enfermedad.

## 1.6. OBJETIVOS

El presente estudio se propone como objetivo general la identificación de fuentes de resistencia a mancha bacteriana en germoplasma de tomate para industria.

Los objetivos específicos son:

1. Evaluar una colección de germoplasma de tomate para industria según nivel de resistencia a mancha bacteriana mediante ensayos a campo. El germoplasma a evaluar está constituido por fuentes de resistencia a la enfermedad, variedades utilizadas comercialmente y líneas avanzadas del programa nacional de mejoramiento.

2. Explicar las diferencias entre variedades con distinto nivel de resistencia. Para ello, se pretende determinar los componentes de resistencia parcial de esta enfermedad en invernadero y cámara de crecimiento.

## DISCUSIÓN GENERAL

### 4.1. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN

En este estudio se evaluó el germoplasma de tomate según su resistencia a la mancha bacteriana raza T3 a campo y en condiciones controladas. La severidad en la hoja permitió diferenciar genotipos resistentes de susceptibles a *Xanthomonas perforans* (T3) tanto en condiciones controladas como a campo. La severidad en el follaje determinada por una escala diagramática permitió determinar el nivel de infección de las hojas de cada material de manera fácil y rápida pudiendo ser utilizada en grandes ensayos de campo como propone De Mello *et al.* (1997b). Además, la severidad presentó gran consistencia entre años y ambientes a pesar de las condiciones agrometeorológicas contrastantes.

La incidencia de mancha bacteriana en frutos resultó un parámetro variable entre años. Esto coincide con lo observado por Scott *et al.* (1989) y puede deberse a diferencias en las condiciones ambientales durante el período sensible del fruto. La falta de consistencia, dificulta la selección por este carácter. Sin embargo, dado que la resistencia en hojas y en frutos está controlada por distintos genes sería importante para los programas de mejoramiento evaluar la incidencia en los frutos (Scott y Jones 1986, Scott *et al.* 1989)

En cuanto a los componentes de resistencia evaluados, el número de manchas en las hojas fue eficaz para identificar los genotipos resistentes en condiciones controladas. Este componente está vinculado a la frecuencia y tamaño de los estomas (Ramos *et al.*, 1992). El período de latencia no permitió diferenciar materiales en ninguno de los experimentos a diferencia de lo obtenido por Silva-Lobo *et al.* (2005), Lugon-Lima (2005) y Mendez de

Souza *et al.* (2008). Sin embargo, se verificó una correlación negativa significativa entre el período de latencia y la severidad en el follaje. El monitoreo de la población bacteriana en el tejido vegetal permitió diferenciar genotipos según resistencia, pero es muy laborioso por lo que no se adapta a ensayos con gran número de genotipos.

#### 4.2. FUENTES DE RESISTENCIA

A través de los experimentos a campo, en invernadero y en cámara de crecimiento se identificaron fuentes de resistencia parcial a *Xanthomonas perforans* raza T3. La línea Hawaii 7981 presentó baja severidad en el follaje y bajo número de manchas en condiciones controladas. Este material combina resistencia por hipersensibilidad conferida por el gen *Xv3* y resistencia de campo, en la que participan otros genes menores (Scott *et al.* 1996, Scott *et al.* 2001). La participación de muchos genes en la resistencia de campo de Hawaii 7981 complejizan la transferencia por retrocruzamiento a cultivares comerciales (Scott *et al.*, 2001). Ejemplo de esta complejidad se observa en la línea Florida 216. Este material contiene el gen *Xv3*, transferido por retrocruzadas sucesivas (Stall *et al.*, 2009). Sin embargo, no presentó resistencia de campo.

La variedad Loica presentó gran resistencia en el follaje y en los frutos en todos los experimentos realizados. Este material presenta diversas ventajas para su uso como fuente de resistencia a mancha bacteriana raza T3. En primer lugar, pertenece a la especie *Solanum lycopersicum*, lo que implica que no existen barreras de incompatibilidad con el tomate cultivado. En segundo lugar, presenta buenas características agronómicas y productivas, destacándose por su gran potencial de rendimiento (Izquierdo *et al.* 1980, González 2006, Giménez *et al.* 2010). Además, combina resistencia parcial a otras enfermedades como al virus de la peste negra (TSWV) (Gallardo y Calvar, 1992). Por último, la resistencia parcial se transfiere a la

progenie. Esto se verifica en la resistencia parcial que muestran las líneas LB que tuvieron a Loica como parental en el cruzamiento que las originó.

Las líneas LB 60, 76, 97 y 99 tuvieron niveles intermedios de resistencia que probablemente provenga de Loica. Sin embargo, hay algunas diferencias entre ellas. LB 99, LB 60 y LB 76 se destacaron por su resistencia en frutos y una resistencia moderada en el follaje. LB 97 presentó resistencia moderada en el follaje y en fruto el comportamiento fue variable entre los años. Además, LB 97 tuvo un bajo número de manchas en las hojas, sin embargo la severidad fue alta en comparación con Loica. Esto indicaría que esta línea presenta manchas de mayor tamaño. Parecería que LB 97 tiene mayor resistencia a la penetración que a la colonización del tejido luego del ingreso de la bacteria al mesófilo de la hoja. Esto no se pudo confirmar en el monitoreo de la población bacteriana, donde LB 97 tuvo menor población bacteriana dentro del tejido que LB 85.

La variedad Ohio 8245 presentó una resistencia moderada a la raza T3. Esto se suma a la resistencia cuantitativa a la raza T2 demostrada por Silva-Lobo *et al.* (2005).

#### 4.3. CONCLUSIONES GENERALES

A partir de este trabajo se concluye que las evaluaciones a campo permitieron diferenciar genotipos resistentes en las condiciones reales de producción. La severidad en hojas evaluada con la escala diagramática desarrollada por De Mello *et al.* (1997b) permitió evaluar un gran número de plantas de tomate de manera sencilla y rápida. Además, fue muy consistente entre años a pesar de las diferencias ambientales. La incidencia en los frutos resulta más variable entre años. Sin embargo, como la resistencia en frutos está gobernada por genes distintos a la resistencia en el follaje aporta información complementaria para el mejoramiento por resistencia a mancha bacteriana. En condiciones controladas, el componente número de manchas



fue el más efectivo para diferenciar materiales según resistencia a *Xanthomonas perforans*.

Este estudio permitió identificar nuevas fuentes de resistencia cuantitativa a *Xanthomonas perforans* raza T3, que pueden ser incorporadas a los programas de mejoramiento. La fuente de resistencia más destacada fue la variedad Loica. La misma combina resistencia parcial en follaje y en fruta a mancha bacteriana raza T3, gran potencial de rendimiento y resistencia a otras enfermedades. Las líneas avanzadas LB 60, LB 76, LB 97 y LB 99 presentaron niveles intermedios de resistencia parcial a la enfermedad. Además la línea Ohio 8245 presentó niveles intermedios de resistencia a la raza T3 lo que complementa la resistencia a la raza T2 ya identificada anteriormente.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Alippi AM. 1992. Histopatología de hojas de tomate inoculadas con *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Agronomy for Sustainable Development*. 12: 115-122.
- Astua-Monge G, Minsavage GV, Stall RE, Vallejos CE, Davis MJ, Jones JB. 2000. Xv4-vrxv4: A new gene-for-gene interaction identified between *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* race T3 and the wild tomato relative *Lycopersicon pennellii*. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 13 (12): 1346-1355.
- Atanassova B, Georgiev H. 2006. Expression of heterosis by hybridization. En: Razdan MK, Mattoo AK. ed. *Genetic improvement of Solanaceous crops*. Volume 2: Tomato. Jersey, Science publishers. pp. 113 - 151.
- Bender CL, Malvick DK, Conway KE, George S, Pratt P. 1990. Characterization of pXV10A, a copper resistance plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Applied and Environmental Microbiology*. 56: 170-175.
- Bergamim Filho A, Kimati H, Amorim L. 1995. *Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos*. 3ª. São Paulo. Ceres. 317 p.
- Blancard D. 1992. *Enfermedades del tomate*. 1ª. Madrid. Mundiprensa. 212 p.
- Bouzar H, Jones JB, Stall RE, Hodge NC, Minsavage GV, Benedict AA, Alvarez AM. 1994. Physiological, chemical, serological and pathogenic analyses of a worldwide collection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* strains. *Phytopathology*. 84: 663-671.
- Canover RA, Gerhold NR. 1981. Mixtures of copper and maneb or mancozeb for control bacterial spot of tomato and their compatibility for control of

- fungus diseases. En: Annual meeting of the Florida State Horticultural Society (94°. 1981, Lake Buenavista, Florida). Proceeding. Florida. Florida state horticultural society. pp. 154-156.
- Cerkauskas R. 2005. Fact sheet, Bacterial spot: *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. AVRDC The world vegetable center. 05- 638. 10 julio 2011. [http://avrdc.org/pdf/tomato/bacterial\\_spot.pdf](http://avrdc.org/pdf/tomato/bacterial_spot.pdf).
- Chand JN, Walker JC. 1964. Relation of age of leaf and varietal resistance to bacterial multiplication in cucumber inoculated with *Pseudomonas lachrymans*. *Phytopathology*. 54: 49-50.
- De Mello SCM, Lopes CA, Takatsu A, Giordano LB. 1997a. Resistência de genótipos de tomateiro a mancha-bacteriana em campo e em casa de vegetação. *Fitopatologia Brasileira*. 22(4): 496-501.
- De Mello SCM, Takatsu A, Lopes CA. 1997b. Escala diagramática para avaliação da mancha-bacteriana do tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*. 22(3): 447-448.
- Diab S, Bashan Y, Okon Y. 1982. Studies on infection with *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial scab of pepper in Israel. *Phytoparasitica*. 10: 183-191.
- DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuarias). 2010. Encuesta hortícola Sur y Norte. Montevideo. 16 agosto 2011. [http://www.mgap.gub.uy/DIEA/Encuestas/Se236/SE236\\_EncuestasHortícolas2011.html](http://www.mgap.gub.uy/DIEA/Encuestas/Se236/SE236_EncuestasHortícolas2011.html).
- Díez MJ, Nuez F, Jordá C, Juárez M, Ortega A. 1993. Búsqueda de fuentes de resistencia al virus del bronceado (Tomato spotted wilt virus) para la mejora de tomate y pimiento. Congreso Ibérico de ciencias hortícolas (2°, 1993, Zaragoza). Comunicaciones. SECH. Zaragoza. pp. 1286-1291.
- Doidge EM. 1921. A tomato canker. *Annal of Applied Biology*. 7: 407-430.

- El-Morsy GA, Somodi GC, Scott JW, Stall RE, Jones JB. 1994. Aggressiveness of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* tomato race 3 (T3) strains over tomato race 1 (T1) strains: Evidence of antagonism. *Phytopathology*. 84: 1094.
- Emmatty A, Schott MD, George BF. 1982. Inoculation technique to screen for bacterial speck resistance of tomatoes. *Plant Disease*. 66: 993-994.
- EPPO/CABI (European and Mediterranean Plant Protection Organization/ Centre for Agricultural Bioscience International). 2006. *Xanthomonas vesicatoria*. En: Quarantine pest for Europe. 5 agosto 2011. [http://www.eppo.org/quarantine/bacteria/Xanthomonas-vesicatoria/xantve\\_ds.pdf](http://www.eppo.org/quarantine/bacteria/Xanthomonas-vesicatoria/xantve_ds.pdf).
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2011. On-line crop production statistics. Roma. Italia. 19 agosto 2011. <http://apps.fao.org/corp/statistics/en/>.
- Foster RE, Latin RX, Weller SC. 1993. Pesticide use on processing tomatoes grown in Indiana [En línea]. Purdue Univ. 23 mayo 2012. <http://extension.entm.purdue.edu/publications/ID-193.pdf>.
- Gallardo GS, Calvar DJ. 1992. Tomato for industry breeding program in Argentina. *Acta Horticulturae*. 301: 87-90.
- Gardner MW, Kendrick JB. 1921. Bacterial spot of tomato. *Journal of Agricultural Research*. 21: 123-156.
- Giménez G, Berrueta C, Lenzi A, González M, Rezano A, Ibañez F. 2010. Evaluación de híbridos y variedades de tomate industria (ciclo 2009/10); En: Resultados experimentales en el cultivo de tomate. Canelones, Uruguay. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Serie Actividades de difusión No. 606. pp. 13-23.

- González M. 2006. Cultivar Loica: Una alternativa para el cultivo de tomate para industria. Canelones, Uruguay. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Hoja de divulgación No. 95.
- Hert AP, Roberts PD, Momol MT, Minsavage GV, Tudor-Nelson SM, Jones JB. 2005. Relative importance of bacteriocin-like genes in antagonism of *Xanthomonas perforans* tomato race 3 to *Xanthomonas euvesicatoria* tomato race 1 strains. Applied and environmental microbiology. 71 (7): 3581–3588.
- Horsfall JG, Barratt RW. 1945. An improved system for measuring plant disease. Phytopathology. 35: 655.
- Huang JS. 1986. Ultrastructure of bacterial penetration in plants. Annual Review of Phytopathology. 24: 141–157.
- Hutton SF, Scott JW, Yang W, Sim SC, Francis DM, Jones JB. 2010. Identification of QTL associated with resistance to bacterial spot race T4 in tomato. Theoretical and Applied Genetics. 121 (7): 1275-1287.
- Izquierdo JA, Maeso CR, Villamil J. 1980. Estabilidad en la producción de ocho cultivares de tomate para industria. Investigaciones Agronómicas. 1:47-51.
- Jones JB, Lacy GH, Bouzar H, Minsavage GV, Stall RE, Schaad NW. 2005. Bacterial spot – Worldwide distribution, importance and review. Acta Horticulturae. 695: 27-34.
- Jones JB, Lacy GH, Bouzar H, Stall RE, Schaad NW. 2004. Reclassification of the *Xanthomonas* associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. Systematic and Applied Microbiology. 27: 755-762.
- Jones JB, Bouzar H, Stall RE, Almira EC, Roberts P, Bowen BW, Sudberry J, Strickler P, Chun J. 2000. Systematic analysis of *xanthomonas* (*Xanthomonas* spp.) associated with pepper and tomato lesions. International Journal of Systematic Bacteriology. 50: 1211-1219.

- Jones JB, Bouzar H, Somodi GC, Stall RE, Pernezny K, El-Morsy G, Scott JW. 1998. Evidence for the preemptive nature of tomato race 3 of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida. *Phytopathology*. 88: 33-38.
- Jones JB, Stall RE, Scott JW, Somodi GC, Bouzar H, Hodge NC. 1995. A third tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease*. 79: 395-398.
- Jones JB, Stall RE, Zitter TA. 1991. Compendium of tomato diseases. 1<sup>a</sup>. Minnesota. APS press. 73 p.
- Jones JB, Scott JW. 1986. Hypersensitive response in tomato to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease*. 70: 337-339.
- Lopez-Lambertini P, Biderbost E, Di Feo L, Mollinedo VA. 2003. Relación entre La concentración viral y la tolerancia al TSWV determinado por el gen "platense" en tomate. *Fitopatología*. 38 (1): 23-31.
- Lugon Lima M, Moulin M, Bentos CS, Sudré CP, Riva-Souza EM, Silva MP, Rodrigues R, Araujo JS. 2005. Acessos de tomateiro resistentes as raças T1, T2 e T3 de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Em: Congresso Brasileiro de Olericultura (45<sup>o</sup>., 2005, Fortaleza). *Annais. ABH. Piracicaba*. pp. 89-93.
- Marco GM, Stall RE. 1983. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. *Plant Disease*. 67: 779-781.
- Marcuzzo LL, Fernanadez JMC, Becker WF. 2009. Influencia da temperatura e da duração do molhamento foliar na severidade da mancha bacteriana do tomateiro. *Summa Phytopathologica*. 35 (3): 229-230.
- Marcuzzo LL. 2009. Importância das populações epifíticas na epidemiologia de enfermidades bacterianas. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. 8 (2): 146-151.

- McGuire RG, Jones JB, Scott JW. 1991. Epiphytic populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on tomato cultigens resistant and susceptible to bacterial spot. *Plant Disease*. 75(6): 606-609.
- Mendes de Souza MF, Rodrigues R, Texeira do Amaral A, Pombo C. 2008. Genetic parameters of resistance components to *Xanthomonas* spp. in tomato. *Crop Breeding and applied Biotechnology*. 8: 155-162.
- Menezes dos Santos JR. 1999. Protocolo de tecnologia: Seleção para resistência a doenças em hortaliças. Embrapa hortaliças. Comunicado técnico 11. 3pp.
- Minsavage GV, Balogh B, Stall RE, Jones JB. 2003. New tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* associated mutagenesis of tomato race 3 strains. *Phytopatology*. 93: 62.
- Montelongo MJ. 2012. Caracterización de *Xanthomonas* spp. causantes de la mancha bacteriana del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Uruguay. Tesis *Magister*. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 70 p.
- Niks RE, Lindhout WH. 2004. Curso sobre mejoramiento Resistencia durable a patógenos especializados. 3ª ed. Nedherland. Wageningen Agricultural University. 205p.
- Parlevliet JE. 1979. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology*. 17: 203-222.
- Peralta IE, Spooner DM. 2006. History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae). En: Razdan MK, Mattoo AK. ed. Genetic improvement of Solanaceous crops. Volume 2: Tomato. Jersey, Science publishers. pp. 1-24.
- Pohronezny K, Volin RB. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hortscience*. 21: 304-306.

- Quezado-Duval AM. 2008. Mancha-bacteriana do tomateiro: agentes causais e perspectivas de controle. En: Congresso Brasileiro de tomate industrial (2º, 2008, Goiânia, Brasil) Anais. Goiânia, Congresso Brasileiro de tomate industrial. p. 19.
- Quezado-Duval AM, Camargo, LEA. 2004. Raças de *Xanthomonas* spp. associadas a mancha-bacteriana em tomate para processamento industrial no Brasil. Horticultura brasileira. 22(1): 80-86.
- Ramos LJ, Narayanan KR, McMillan RT. 1992. Association of stomatal frequency and morphology in *Lycopersicon* species with resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Plant pathology. 41(2): 157-164.
- Ribeiro Do Vale FX, Parlevliet JE, Zambolim L. 2001. Concepts in plant disease resistance. Fitopatologia Brasileira. 26(3): 577-589.
- Rick CM. 1978. Tomato germplasm resources. En: International Symposium on Tropical Tomato (1º., 1978, Shanhua, Taiwan). Proceedings. Shanhua, Taiwan, Asian Vegetable Research and Development Center. pp. 214-224.
- Robbins MD, Darrigues A, Sim SC, Masud MAT, Francis DM. 2009. Characterization of hypersensitive resistance to bacterial spot race T3 (*Xanthomonas perforans*) from tomato accession PI 128216. Phytopathology. 99 (9): 1037-1044.
- Scott JW, Hutton SF, Jones JB, Francis DM, Miller SA. 2006. Resistance to bacterial spot race T4 and breeding for durable, broad-spectrum resistance to other races. Report of the tomato genetics cooperative. 56: 33-36.
- Scott JW, Francis DM, Miller SA, Somodi GC, Jones JB. 2003. Tomato bacterial spot resistance derived from PI 114490; Inheritance of resistance to race T2 and relationship across three pathogen races.



- Journal of the American Society for Horticultural Science. 128(5): 698-703.
- Scott JW, Jones JB, Somodi GC. 2001. Inheritance of resistance in tomato to race T3 of the bacterial spot pathogen. Journal of the American Society for Horticultural Science. 126(4): 436-441.
- Scott JW, Miller SA, Stall RE, Jones JB, Somodi GC, Barbosa V, Francis DL, Sahin F. 1997. Resistance to race T2 of the bacterial spot pathogen in tomato. HortScience. 32 (4): 724-727.
- Scott JW, Stall RE, Jones JB, Somodi GC. 1996. A single gene controls the hypersensitive response of Hawaii 7981 to race 3 (T3) of the bacterial spot pathogen. Report of the tomato genetics cooperative. 46: 23-26.
- Scott JW, Jones JB, Somodi GC. 1995. Screening tomato accessions for resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, race T3. HortScience. 30(3): 579-581.
- Scott JW, Jones JB. 1989. Inheritance of resistance to foliar bacterial spot of tomato incited by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. HortScience. 114(3): 111-114.
- Scott JW, Somodi GC, Jones JB. 1989. Resistance to bacterial spot fruit infection in tomato. HortScience. 24(5): 825-827.
- Scott JW, Jones JB. 1986. Sources of resistance to bacterial spot in tomato. HortScience. 21(2): 304-306.
- Silva AM, Quezado-Soares CA, Lopes L, Giordano B. 1998. Correlação da resistência de genótipos de tomateiro a mancha-bacteriana em campo e em casa de vegetação. Fitopatologia Brasileira. 23: 216.
- Silva-Lobo VL, Lopes CA, Giordano LB. 2005, Componentes da Resistência a mancha-bacteriana e crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, raça T2, em genótipos de tomateiro. Fitopatologia Brasileira. 30(1): 17-20.

- Somodi GC, Jones JB, Scott JW, Wang JF, Stall RE. 1996. Relationship between the hypersensitive reaction and field resistance to tomato race 1 of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Plant Disease. 80: 1151-1154.
- Somodi GC, Jones JB, Scott JW, Jones JP. 1994. Screening tomato seedlings for resistance to bacterial spot. HortScience. 29(6): 680-682.
- Somodi GC, Jones JB, Scott JW. 1991. Populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in lesions of susceptible and resistant tomato genotypes. Plant Disease. 75: 357-360.
- Stall RE, Jones JB, Minsavage GV. 2009. Durability of resistance in tomato and pepper to *Xanthomonas* causing bacterial spot. Annual Review of Phytopatology. 47: 265-284. 10 noviembre 2010. <http://www.phyto.annualreviews.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081752.html>.
- Thayer PL, Stall RF. 1962. A survey of *Xanthomonas vesicatoria* resistance to Streptomycin. . En: Annual meeting of the Florida State Horticultural Society (75°. 1962, Florida). Proceeding. Florida. Florida state horticultural society. pp. 163-165.
- Tigchelaar EC. 1986. Tomato breeding. En: Bassett MJ. ed. Breeding vegetable crops. Connecticut, avi publishing company. pp. 135 – 166.
- Van Der Plank JE. 1963. Plant disease: epidemic and control. London. Academic Press.
- Wang JF, Jones JB, Scott JW, Stall RE. 1994. Several genes in *Lycopersicon esculentum* control hypersensitivity to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Phytopathology. 84: 702-706.
- Yang W, Miller SA, Scott JW, Jones JB, Francis DM. 2005a. Mining tomato genome sequence databases for molecular markers application to bacterial resistance and marker assisted selection. Acta Horticulturae. 695: 241-250.

- Yang W, Sacks EJ, Lewis ML, Miller SA, Francis DM. 2005b. Resistance in *Lycopersicon esculentum* intraspecific crosses to race T1 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* causing bacterial spot of tomato. *Phytopathology*. 95: 519-527.
- Yang W, Francis DM. 2006. Genetics and breeding for resistance to bacterial diseases in tomato: prospects for marker-assisted selection. En: Razdan MK, Mattoo AK. ed. Genetic improvement of Solanaceous crops. Volume 2: Tomato. Jersey, Science publishers. pp. 379-419.
- Yu ZH, Wang JF, Stall RE, Vallejos CE. 1995. Genomic localization of tomato genes that control a hypersensitive reaction to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye. *Genetics*. 141: 675-682.
- Zadoks JC, Schein RD. 1979. Epidemiology and plant disease management. New York. Oxford University Press. 427 p.
- Zadoks JC. 1997. Disease resistance testing in cocoa. A review on behalf of FAO/INGENIC. University of Reading, UK. 23-52.