

Estado actual del uso de marcadores moleculares en el diagnóstico y control genético de enfermedades del tomate de árbol

Current status of the use of molecular markers in the diagnosis and genetic control of diseases of tree tomato

Castro-Quezada Patricio^{1*},
Palacios-Valdivieso Alfonso¹
Díaz-Granda Lourdes¹

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

*Autor para correspondencia: patricio.castro@ucuenca.edu.ec

Recibido: 13/02/2020

Aprobado: 22/05/2020

RESUMEN

El tomate de árbol es un cultivo de origen andino que se siembra principalmente en América del Sur y que cada vez tiene mayor demanda a nivel mundial. Sin embargo, es un cultivo muy susceptible a plagas y enfermedades. Actualmente existen programas de mejoramiento para obtener cultivares resistentes que incluyen especies silvestres para la introgresión de rasgos de interés como resistencia a enfermedades y mejora de la calidad de la fruta en plantaciones comerciales. No obstante, a pesar de que algunos segregantes de las cruas realizadas han mostrado resistencia en condiciones de campo, la información disponible en cuanto a marcadores moleculares útiles en las interacciones de este cultivo con sus principales patógenos es escasa. En el Ecuador, los principales patógenos que atacan al tomate de árbol son *Colletotrichum* sp., *Meloidogyne* sp. y especies de virus clasificadas en seis géneros: Potyvirus, Cucumovirus, Tospovirus, Tobamovirus, Potexvirus y Polerovirus. La presencia de estos patógenos ha sido detectada con el uso de diferentes técnicas moleculares. El presente reporte presenta el estado actual en el uso de marcadores moléculas, tanto en el diagnóstico de enfermedades, como en la detección de información relacionada a la resistencia.

Palabras clave: Tomate de árbol, marcadores moleculares, enfermedades del tomate de árbol

■ ABSTRACT

Tree tomato is a crop of Andean origin. This is cultivated mainly in South America and it is increasingly in demand worldwide. However, it is a crop very susceptible to pests and diseases. There are currently improvement programs to obtain resistant cultivars that include wild species for introgression of features of interest such as disease resistance and improvement of fruit quality in commercial plantations. However, although some segregators of the crosses made have shown resistance in field conditions, the information available regarding molecular markers useful in the interactions of this crop with its main pathogens is scarce. In Ecuador, the main pathogens that attack tree tomatoes are *Colletotrichum* sp., *Meloidogyne* sp. and virus species classified in six genera: *Potyvirus*, *Cucumovirus*, *Tospovirus*, *Tobamovirus*, *Potexvirus* and *Polerovirus*. The presence of these pathogens has been detected with the use of different molecular techniques. This report presents the current status in the use of molecule markers, both in the diagnosis of diseases, and in the detection of resistance-related information.

■ INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol, también conocido en Colombia como “tamarillo” es un cultivo de origen andino. Los frutos de esta especie son comestibles, de sabor ligeramente ácido y ricos en vitaminas (provitamina A, vitamina C y B₆) y minerales (hierro y potasio). Se siembra en gran parte de América del Sur entre 1000 y 3000 m s.n.m y la mayor parte de la producción comercial ocurre en Colombia, Perú y Ecuador. Además, es un cultivo que cada vez tiene mayor demanda a nivel mundial (Carrillo *et al.*, 2015). En Ecuador es común en huertos familiares y es cultivado principalmente por pequeños y medianos productores (Bolagay *et al.*, 2015). Para el año 2012 la superficie plantada del cultivo fue de 5,964 ha de las cuales se registraron 2,084 ha cosechadas con una producción total de 14,695 TM. El rendimiento fue de 7,05 TM/ha. Para el mismo año se reportaron exportaciones de 43,15 TM a España, Estados Unidos, Holanda, Canadá y Suiza, entre los principales destinos (Bucheli *et al.*, 2014). Sin embargo, este cultivo presenta principalmente dos tipos de problemas: el primero es que es muy susceptible al ataque de plagas y enfermedades; y, segundo, la expansión de las zonas de producción está limitada por factores como la baja calidad de la fruta (heterogeneidad). En la mayoría de los casos, las plantas son seleccionadas directamente por los productores, con materiales que tienen una base genética estrecha y problemas fitosanitarios (Ramírez *et al.*, 2019).

Enfermedades del tomate de árbol

Uno de los más grandes problemas para su producción es la alta susceptibilidad a enfermedades provocadas por virus, bacterias, nematodos, hongos (Prohens y Nuez, 2001; Ramírez *et al.*, 2017). Históricamente, la antracnosis en la fruta y los nematodos del nudo de la raíz se han considerado las enfermedades más importantes en el tomate de árbol. Sin embargo, en los últimos años, la prevalencia y la gravedad de otros problemas fitopatológicos ha aumentado notablemente, como las enfermedades virales causadas por los virus (Ramírez *et al.*, 2017).

Antracnosis del fruto

La antracnosis del fruto u “ojo de pollo” es la enfermedad más importante del cultivo del tomate de árbol, debido a su amplia distribución y a la magnitud de las pérdidas que ocasiona en las zonas donde se cultiva esta especie. El hongo ataca principalmente a los frutos, pero también afecta hojas y ramas. En

el follaje las lesiones se localizan especialmente en las hojas más viejas y se presentan como manchas necróticas concéntricas de color negro a lo largo de las nervaduras, siendo más conspicuas en el envés; mientras, que en los frutos las lesiones aparecen ligeramente hundidas, presentan color negro y son bien definidas (Falconí *et al.*, 2013).

Para el cultivo de tomate de árbol se ha estimado que los costos de control de la antracnosis corresponden a un 45 % de los costos totales de producción. A pesar del esfuerzo realizado por los productores, las pérdidas alcanzan hasta un 50 % o más a causa de la severidad de los daños (Saldarriaga y Castaño, 2008). En la provincia de Pichincha, los productores de tomate de árbol mencionan que la prevención de enfermedades requiere aplicaciones constantes de fungicidas sistémicos (cada 5 días durante el invierno y cada 10 días durante el verano), para reducir las pérdidas de campo que pueden alcanzar el 100 % (Caicedo *et al.*, 2017).



Figura 1. Síntomas observados frutos de cultivos de tomate de árbol (*S. betaceum*) en laboratorio y en campo. Se observan las manchas circulares negras y deprimidas con bordes definidos para (*Colletotrichum* sp.).

Tradicionalmente se ha considerado a las especies *C. acutatum* y *C. gloeosporioides* como responsables de la antracnosis en base a características morfológicas (Cannon *et al.*, 2012). No obstante, estudios realizados en Ecuador y Colombia, en los cuales se han complementado las características morfológicas con estudios moleculares han permitido identificar como el agente causal *Colletotrichum tamarilloi*, perteneciente al complejo *C. acutatum*. Para esto se han realizado análisis filogenéticos moleculares multilocus basados en PCR, con cebadores específicos para las secuencias combinadas de *Actina* (ACT), β -*tubulina* (TUB2) y *Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa* (GAPDH) (Pardo *et al.*, 2016; Caicedo *et al.*, 2017; Castro *et al.*, 2019).

Para el tomate de árbol se ha demostrado que *Colletotrichum* spp. es un patógeno generalista. En ensayos de laboratorio con cepas aisladas de tomate de árbol y mango se ha demostrado que no son específicos del huésped ni muestran preferencia. No obstante, aunque son capaces de infectar ambas especies, el análisis de varios parámetros de la enfermedad ha demostrado que las estrategias patogénicas para cada especie podrían ser diferente. Además, estas diferencias se pueden encontrar incluso a nivel de cepa dentro de algunas especies (Pardo *et al.*, 2016; Cabrera *et al.*, 2018).

Las especies de *Colletotrichum* emplean una amplia diversidad de estrategias para colonizar y obtener nutrientes de sus huéspedes. Pueden comportarse como organismos biotróficos, necrotrofos, hemibiotróficos o incluso endófitos (Rodríguez y Redman, 2008; Vargas *et al.*, 2012; Prusky *et al.*, 2013). Por ejemplo, para los miembros del complejo de especies *C. acutatum*, los estilos de vida dependen de muchos factores, incluidos el huésped, el tejido infectado y el medio ambiente. Tras la penetración de las frutas maduras, estas especies de este complejo tienen una fase biotrófica corta que está representada por hifas primarias multilobuladas, seguidas de una etapa necrotrofica extendida, que conduce a síntomas de la enfermedad (Baroncelli *et al.*, 2017).

Con el uso de diferentes marcadores moleculares y diversas herramientas biotecnológicas las secuencias del genoma de especies de *Colletotrichum* se han publicado en los últimos años (Baroncelli *et al.*, 2016; Gan *et al.*, 2016). Los estudios genómicos comparativos se han centrado en los genes asociados con la patogenicidad (Gan *et al.*, 2013), la especialización del huésped (Baroncelli *et al.*, 2016; Gan *et al.*, 2016), transición en el estilo de vida entre biotrofia y necrotrofia y más recientemente entre estilos de vida endofíticos y parasitarios (Baroncelli *et al.*, 2017). Por ejemplo, los análisis comparativos de secretomas han revelado que la mayoría de las proteínas secretadas predichas tienen actividad enzimática, muchas de las cuales podrían ser efectoras y jugar un rol en la patogenicidad del hongo (Gan *et al.*, 2013; Baroncelli *et al.*, 2016).

El rango de huéspedes de *Colletotrichum* spp. parece estar asociado con la pérdida o ganancia de genes en familias como las que codifican proteasas y *Carbohydrate-Active enZymes* (CAZymes) (Baroncelli *et al.*, 2016). En particular, las familias de genes que codifican proteasas y CAZymes están altamente expandidas en *Colletotrichum* (Gan *et al.*, 2013; Baroncelli *et al.*, 2016), lo que sugiere una mayor importancia de estas familias de genes en *Colletotrichum* spp. para procesos de infección. Los experimentos de perfiles transcripcionales también han revelado que los genes que regulan las CAZymes, junto con otras clases de proteínas secretadas, aumentan su nivel de transcripción durante el proceso de infección, lo que ayuda a explicar su rol en la patogenicidad (Kleemann *et al.*, 2012; O'Connell *et al.*, 2012). Los complejos de especies de *C. acutatum* y *C. gloeosporioides* tienen repertorios sorprendentemente similares de CAZymes y proteasas secretadas (Baroncelli *et al.*, 2016).

A nivel de campo, en la actualidad la antracnosis se controla especialmente con productos químicos. Es común la aplicación de fungicidas protectores como mancozeb, clorotalonil y captan, y con fungicidas sistémicos a base de bencimidazol como benlate y carbendazim (Caicedo *et al.*, 2017). Sin embargo, existen reportes que señalan que además de la alta contaminación ambiental el uso constante y prolongado de este último ha inducido resistencia en *Colletotrichum*, lo que limita la efectividad de estos productos en condiciones de campo (Kongtragoul *et al.*, 2011). Blank *et al.* (1987) indican que el uso excesivo de fungicidas sistémicos puede generar contaminación que permanece en las frutas de tomate de árbol destinadas al consumo humano, limitando seriamente la exportación, debido a las estrictas regulaciones de los países importadores de esta fruta. Además, Chung *et al.* (2006) señalan que las aplicaciones continuas de estos productos pueden generar mutaciones y nuevos y más virulentos aislados de *Colletotrichum*. Por ejemplo, se ha observado transiciones en el gen de la β -tubulina (TUB2), lo que sugiere que las aplicaciones constantes de fungicidas pueden generar mutantes patógenos altamente resistentes.

Virosis

Esta enfermedad puede ser causada por un complejo de virus que producen síntomas variados como: mosaicos, manchas necróticas, manchas marrones, rizado de hojas, moteado, manchas rojizas irregulares de intensidad variable, retraso en el crecimiento, ampollas, endurecimiento de la pulpa en las frutas maduras, engrosamiento de las venas y deformación de las hojas (Ramírez *et al.*, 2017). Los virus son los responsables de una reducción del 50 al 80 % de la producción en frutas inmaduras que presentan roturas de color que van del amarillo al rojo pálido. En las frutas maduras, la pulpa se endurece y la piel presenta manchas moradas (Gil *et al.*, 2009; Mejía *et al.*, 2009).



Figura 2. Malformaciones y clorosis en hojas de tomate de árbol provocadas por virus.

Se ha reportado que diferentes especies de virus causan síntomas en el tomate de árbol. Algunos síntomas son producidos por infecciones mixtas y estrechamente relacionadas (Ramírez *et al.*, 2017). Estos diagnósticos se han realizado mediante técnicas serológicas; y, se han complementado con técnicas moleculares como la RT-PCR (con cebadores específicos) y secuenciación de ADNc (Schneider *et al.*, 2004).

Existen reportes que señalan que las infecciones virales en tomate de árbol pueden incluir miembros de géneros Alfamovirus (Virus del mosaico de la alfalfa, AMV), Cucumovirus (Virus del mosaico del pepino, CMV), Nepovirus (Virus del anillo de tomate, ToRSV), Polerovirus (Virus de la hoja de la papa, PLRV), Potexvirus (Virus del mosaico de la papa aucuba, PAMV; Virus Y de la papa, PVY; Virus del mosaico de Tamarillo, TaMV; Virus A de la papa, PVA), Tobamovirus (Virus del mosaico del tomate, ToMV) y Tospovirus (Virus del marchitamiento de tomate, TSWV) (Jaramillo *et al.*, 2011).

En Colombia se ha señalado al Virus del enrollamiento de la papa (PLRV) como el más frecuente (Ayala *et al.*, 2010). Sin embargo, también se ha informado la presencia del Virus del mosaico del pepino (CMV) y el Virus del mosaico de la alfalfa (AMV), pero en menor cantidad (Jaramillo *et al.*, 2011). También se ha identificado la presencia de Potyvirus, (ToMV, ToRSV y TSWV) en las provincias de Antioquia, Boyacá, Cundinamarca, Nariño y Putumayo. Los resultados de secuenciación del PLRV de tomate de árbol revelaron altos niveles de identidad el virus Y de la papa (PVY), lo que sugiere la posibilidad de infección cruzada (Duque *et al.*, 2017).

Otro virus importante es el Virus de la malformación de la hoja en tomate de árbol (TaLMV), cuyos síntomas incluyen mosaicos rugosos, deformación foliar severa, defoliación y reducción de la longevidad de la planta. Forma parte del complejo de virosis y uno de los virus más dañinos que infectan las plantas (Ayala *et al.*, 2010; Gallo-García *et al.*, 2011; Jaramillo *et al.*, 2011). El TaLMV se identificó mediante RT-PCR y secuenciación de ADNc de la región N1b-CP, con cebadores degenerados. Los autores han propuesto que sea reconocida como una nueva especie del género Potyvirus (Ayala *et al.*, 2010). La primera secuencia completa del genoma de TaLMV se obtuvo en 2014 en un estudio de secuenciación profunda de una planta de *S. betaceum* infectada y se confirmó la naturaleza distintiva de este virus (Gutiérrez *et al.*, 2014; Gutiérrez *et al.*, 2015). Las comparaciones del genoma de TaLMV revelaron afinidad filogenética con el Virus de la datura colombiana (CDV), un virus originalmente identificado en las plantas de *Brugmansia* recolectadas en la provincia amazónica de Putumayo (Colombia) y, más distantemente, con el virus del grabado del tabaco (TEV), el virus de la papa A (PVA) y el tabaco virus de moteado venoso (TVMV) (Ayala *et al.*, 2010; Gutiérrez *et al.*, 2014; Duque *et al.*, 2017).

En el Ecuador, estudios realizados RT-PCR y microscopía electrónica permitieron identificar virus de los géneros Potyvirus (PVY), Polerovirus (PLRV) y Tobamovirus (ToMV). La sintomatología relacionada a la presencia de PVY y PLRV fue manchas de apariencia aceitosa, deformación de la hoja, amarillamiento y clorosis; mientras que el ampollamiento de las hojas estuvo relacionado con la existencia de los tres virus. Los resultados indicaron la presencia de los tres virus en Tumbaco (Pichincha) y dos (PLRV y PVY) en Pelileo (Tungurahua) (Sivaprasad *et al.*, 2015; Sivaprasad *et al.*, 2016, Insuasti *et al.*, 2016; Espinoza *et al.*, 2017).

También se ha informado la presencia de TMV mediante el uso de la prueba ELISA, pero no hay secuencias disponibles de aislados de virus que infecten *S. betaceum*. ToMV ha sido frecuentemente informado como una de las especies del complejo viral que causa síntomas de enfermedad en el tomate de árbol. Otros virus encontrados son PVV y PTV, dos potyvirus que alguna vez se consideraron cepas de PVY (Spetz *et al.*, 2003). En la provincia de Azuay se determinó la presencia del virus del marchitamiento moteado de tomate (TSWV, género Tospovirus, familia Bunyaviridae) mediante un ELISA sándwich de triple anticuerpo utilizando anticuerpos específicos, lo que se confirmó mediante un ensayo de RT-PCR, comparación de secuencias y análisis filogenético (Yeturu *et al.*, 2016). Otros virus identificados fueron ToRSV y AMV fueron los virus identificados con mayor frecuencia asociados con síntomas de enfermedad viral en estos valles. ToRSV mostró una ligera deformación de la hoja y las infecciones por PLRV también fueron sintomáticas (Vizueté *et al.*, 1990).

Nematodos

En tomate de árbol los fitonematodos del género *Meloidogyne* son los de mayor frecuencia y distribución. Estos causan daño mecánico permitiendo la llegada de otros patógenos y cuya sintomatología en la parte aérea de la planta se observan como marchitez generalizada (Lozada *et al.*, 2002). El deterioro de la planta es progresivo, se observan hojas cloróticas, defoliación y marchitez, reducción del tamaño de frutos y del periodo de producción, finalmente las plántulas mueren. Lo anterior se relaciona con la reducción en la absorción de nutrientes por el deterioro del sistema radical inducido por las agallas que provoca *Meloidogyne* spp. (Mosquera-Espinoza, 2016). El control de nematodos se hace generalmente con productos químicos, pero estos no son deseables para su uso en la agricultura debido a sus altos costos y efectos peligrosos sobre la salud humana y el medio ambiente, pues reducen la biodiversidad del ecosistema (Castro *et al.*, 2011).



Figura 3. Raíces de tomate de árbol que presentan deformaciones y agallas (A) debido a la presencia de *Meloidogyne* sp.

En Ecuador, las pérdidas causadas por nematodos en *S. betaceum* pueden ser de hasta el 90%, lo que resulta en una reducción del 50 % en el ciclo de vida de este cultivo (Ramírez *et al.*, 2015). *Meloidogyne* sp. es el género principal detectado en las solanáceas afectadas por nematodos. Es un endoparásito sedentario de la raíz, que induce el desarrollo de agallas que causan retrasos severos en el crecimiento. Las pérdidas de rendimiento se deben a la acumulación de inóculo de patógenos como resultado del uso continuo de un campo para el mismo cultivo (Djian-Caporalino *et al.*, 2011). En Colombia se ha reportado la presencia de las especies *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. exigua* y *M. hapla*, siendo más frecuente *M. incognita* (García *et al.*, 2004). También se han reportado los géneros *Helicotylenchus* y *Pratylenchus* (Lozada *et al.*, 2002). En Ecuador se ha reportado *Meloidogyne* spp. como el género más frecuente, seguido de *Pratylenchus* spp. También se ha reportado la presencia del género *Hoplolaimus* spp. en el 52 % de muestras colectadas (Vásquez y Soria, 2017). Estos reportes han sido realizados en base a análisis morfológicos y morfométricos. Estas características permiten separar las poblaciones en grupos de especies como primer paso hacia su identificación (Múnera *et al.*, 2010).

También se han realizado estudios a nivel molecular para caracterizar poblaciones de *Meloidogyne* de tomate de árbol en Colombia y Ecuador con cebadores específicos de la especie, análisis de proteínas, análisis moleculares de secuencias y análisis filogenéticos (Múnera *et al.*, 2010; Navarrete *et al.*, 2018). La identificación basada en el análisis de proteínas se basó en una sola hembra joven de *Meloidogyne* y para el análisis de la secuencia de ADN y PCR específico de la especie se utilizó un solo juvenil. Se identificaron seis especies conocidas: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. konaensis* y *M. paranaensis* (Múnera *et al.*, 2010).

Para el control de nematodos en tomate de árbol, se ha extendido el uso de plantas injertadas como uno de los componentes considerados dentro del manejo integrado de plagas y enfermedades. Así, el

portainjertos protege a la planta de los patógenos del suelo incluidos los nematodos, y ayuda a mejorar el rendimiento a través de la asimilación eficiente de nutrientes. Además, se ha demostrado que prolonga la vida comercial de los clones, permite cambios en los cultivares de vástagos en plantas ya establecidas y acelera la reproducción madurez de la planta (Arizala *et al.*, 2011, Vargas *et al.*, 2018).

Algunos estudios han mostrado que diferentes especies solanáceas tienen diferentes respuestas de resistencia/tolerancia al nematodo agallador (González *et al.*, 2010; Navarrete *et al.*, 2018). *Nicotiana glauca* y *Solanum auriculatum* se han utilizado como portainjertos de tomate de árbol en la región andina ecuatoriana porque presentan resistencia/tolerancia a *M. incognita*. La familia Solanácea abarca especies silvestres que han sido reportadas como resistentes al ataque de agentes patógenos del suelo. En la Amazonía ecuatoriana existe diversidad en especímenes de esta familia de plantas que han presentado un bajo número total de nodulaciones (Vargas *et al.*, 2018).

Uso de marcadores moleculares en mejoramiento genético de tomate de árbol

El uso de marcadores moleculares se ha incrementado en el mejoramiento genético de cultivos. Los marcadores moleculares permiten acelerar la identificación de rasgos prometedores que ayudan a resolver los problemas relacionados a la resistencia a diferentes plagas y enfermedades (Azofeifa-Delgado, 2006).

Para el tomate de árbol se han hecho estudios de caracterización molecular utilizando accesiones de *S. betaceum*, y accesiones silvestres relacionadas con esta especie (Peñañiel *et al.*, 2007; Enciso *et al.*, 2010; Acosta-Quezada *et al.*, 2011). Se han evaluado marcadores basados en PCR desarrollados a partir de genes ortólogos conservados de copia única (COS) para determinar polimorfismos en características agronómicas y en reconstrucciones filogenéticas a bajo nivel taxonómico (Li *et al.*, 2008, Enciso-Rodríguez *et al.*, 2010). También se han utilizado marcadores moleculares AFLP y SSR para caracterizar la diversidad molecular de accesiones de *S. betaceum* recolectadas principalmente en Ecuador, con la finalidad de conocer su diversidad genética y establecer una base para la conservación del frutal. Los resultados mostraron que la diversidad genética es alta dentro de los grupos de cultivares y baja diversidad entre los grupos (Peñañiel *et al.*, 2007, Acosta-Quezada *et al.*, 2011).

En cuanto al uso de marcadores moleculares en interacciones entre *S. betaceum* con sus principales patógenos la información reportada es escasa. Se han reportado polimorfismos con marcadores COSII para los rasgos de interés como el tamaño del fruto y la resistencia a los patógenos contra la antracnosis (Pratt *et al.*, 2008). Enciso-Rodríguez *et al.* (2010) realizaron la caracterización genética de 33 accesiones de tomate de árbol con marcadores COSII basados en PCR de otras Solanáceas. También se han utilizado marcadores RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*) (Villares *et al.*, 2018).

Actualmente se vienen desarrollando programas de hibridación interespecífica para obtener cultivares resistentes con ayuda de marcadores moleculares. Sin embargo, en el caso de la resistencia a plagas y enfermedades los procedimientos de mejoramiento con marcadores moleculares no son fáciles de ejecutar debido a la escasa caracterización disponible a nivel molecular con respecto a las interacciones de esta especie con sus patógenos. Estos programas incluyen varias especies silvestres para la transferencia de rasgos de interés como resistencia a enfermedades y características que mejoran el rendimiento de los árboles cultivados, a partir de cruces con especies silvestres como *S. acuminata* Rusby y con *S. uniloba* Rusby (Prohens y Nuez, 2001).

En Colombia, estudios realizados sobre la resistencia de tomate de árbol a la antracnosis han señalado que no existen variedades resistentes (Saldarriaga *et al.*, 2008). Alternativamente, se ha buscado fuentes de resistencia natural a la enfermedad en otras especies relacionadas como *S. uniloba* (Lobo *et al.*, 2011). El material en segregación de la cruce *S. betaceum* x *S. uniloba* presentó resistencia efectiva en campo contra la antracnosis del fruto. Sin embargo, este híbrido tuvo un rendimiento de fruta más bajo en comparación con otras accesiones (Lobo *et al.*, 2011).

En Ecuador, los segregantes de la cruce entre *S. unilobum* y *S. betaceum* presentaron resistencia a la antracnosis en campo, pero frutos de baja calidad. Además, en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) se ha realizado la retrocruza entre [*(S. betaceum unilobum x) x S. betaceum*] x *S. betaceum* para recuperar características de calidad del fruto. Las progenies generadas de la retrocruza se seleccionaron, con base a resistencia, comportamiento agronómico y calidad del fruto y se obtuvieron genotipos con mejores características de la fruta y distintos niveles de resistentes a la antracnosis. De estos grupos de segregantes con características deseables se podría seleccionar individuos para ser utilizados como futuros padres; o, preseleccionados como materiales promisorios para la generación de nuevas variedades (Viera *et al.*, 2016). También se han realizado trabajos sobre caracterización agronómica y molecular con marcadores RAPD de cuatro genotipos de *Solanum betaceum* Cav. tolerante a *Colletotrichum acutatum* en Patate. Se encontró cuatro grupos genéticos diferentes y entre ellos una planta (código 138L2S1) con características deseables para tamaño del fruto, precocidad, producción y tolerancia a plagas y enfermedades (Villares *et al.*, 2018).

Perspectivas

El uso de marcadores moleculares ha permitido identificar con mayor precisión los agentes causales de las enfermedades en el cultivo de tomate de árbol, lo cual resulta invaluable para establecer un mejor plan de manejo en el control de enfermedades. En cuanto a su uso en el estudio del cultivo, los resultados han presentado una reducida diversidad genética en las plantaciones de *S. betaceum* en el Ecuador y constituyen un primer paso para determinar futuras acciones en el mejoramiento de este cultivo. En un futuro, la caracterización molecular de cultivares o inclusive individuos que podrían ser considerados como promisorios; mediante diferentes tipos de marcadores moleculares, podrían servir para seleccionar parentales potenciales para iniciar proyectos de mejoramiento, e inclusive hibridación para la introgresión de genes de interés en el cultivo.

■ AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Dirección de Investigaciones de la Universidad de Cuenca (DIUC) por el financiamiento para realizar este trabajo.

■ BIBLIOGRAFIA

- Acosta-Quezada, P., Martínez-Laborde, J., y Prohens, J. (2011). Variation among tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) accessions from different cultivar groups: implications for conservation of genetic resources and breeding. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(6), 943–960.
- Arizala, M., Monsalvo, A. and Betancourth, C. (2011). Evaluación de Solanáceas silvestres como patrones de lulo (*Solanum quitoense* Lam) y su reacción a *Fusarium* sp. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 28, 147-160.

- Azofeifa-Delgado, A. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 221-242.
- Ayala, M., González, P., Gutiérrez, P., Cotes, J. and Marín, M. (2010). Caracterización serológica y molecular de potyvirus asociados a la virosis del tomate de árbol en Antioquia (Colombia). *Acta Biol Colomb.*, 15, 143–162.
- Baroncelli, R., Amby, D. B., Zapparata, A., Sarrocco, S., Vannacci, G., Le Floch, G., *et al.* (2016). Gene family expansions and contractions are associated with host range in plant pathogens of the genus *Colletotrichum*. *BMC Genomics*, 17, 555. doi: 10.1186/s12864-016-2917-6.
- Baroncelli, R., Talhinhos, P., Pensec, F., Sukno, S.A., Le Floch, G and Thon, M.R. (2017). The *Colletotrichum acutatum* Species Complex as a Model System to Study Evolution and Host Specialization in Plant Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-7.
- Blank, R. H., Dance, H. M., Hampton, R. E., Olson, M. H. and Holland, P. T. (1987). Tamarillo (*Cyphomandra betacea*): effect of field-applied fungicides and post-harvest fungicide dips on storage rots of fruit. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 15, 191–198.
- Bolagay, I., Rueda-Ortiz, D., Soria-Idrovo, N., Tulcan, M., Manjunatha, B., Kundapur, R., Mulla, S and Naga Raju, M. (2015). Agronomic and molecular characterization of four genotypes of *Solanum betaceum*. Cav tolerant to *Colletotrichum acutatum* from the region of Patate in Ecuador. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(7), 933-939.
- Bucheli, V., González, A., A, guilar, D., Ayala, M., Buitrón, J., Buitrón, M. and Yugcha, C. (2014). Zonificación agroecológica económica del cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en el Ecuador a escala 1:250.000. Quito.
- Cabrera, L., Rojas, P., Rojas, S., Pardo-De la Hoza, C.J., Mideros, M.F., Danies, G., Lopez-Kleinec, L., Jiménez, P. and Restrepo, S. (2018). Most *Colletotrichum* species associated with tree tomato (*Solanum betaceum*) and mango (*Mangifera indica*) crops are not host specific. *Plant Pathology*, 67(5), 1022-1030. DOI: 10.1111/ppa.12829.
- Caicedo, J. D., Lalangui, K.P., Pozo, A.N., Cevallos, P.A., Arahana, A.S., Méndez, K.S. (2017). Multilocus molecular identification and phylogenetic analysis of *Colletotrichum tamarilloi* as the causal agent of Tamarillo (*Solanum betaceum*) anthracnose in the Ecuadorian highlands. *European Journal of Plant Pathology*, 148(4), 983-996.
- Cannon, P.F., Damm, U., Johnstony, P.R., y Weir, B.S. (2012). *Colletotrichum* current status and future directions. *Studies in Mycology*, 73, 181–213.
- Carrillo, E., Aller, A., Cruz, S. and Álvarez, J. (2015). Andean berries from Ecuador: A review on Botany, Agronomy, Chemistry and Health Potential. *Journal of Berry Research*, 49–69. doi:10.3233/JBR-140093.
- Castro, L., Flores, L. and Uribe, L. (2011). Efecto de vermicompost y quitina sobre el control de *Meloidogyne incognita* en tomate a nivel de invernadero. *Agronomía Costarricense*, 35, 21-32.
- Castro-Quezada, P., Bravo-Zúñiga C., Cabrera-Cabrera, A., Quillay-Curay, N., Ramón-Montoya, M., Belesaca-Morocho, I. and Díaz-Granda, L. (2019). Caracterización morfológica y molecular del agente causal de la antracnosis en tomate de árbol en Azuay y Loja. *Bosques Latitud Cero*, 9(1), 1 – 15.

- Chung, W. H., Ishii, H., Nishimura, K., Fukaya, M., Yano, K. and Kajitani, Y. (2006). Fungicide sensitivity and phylogenetic relationship of anthracnose fungi isolated from various fruit crops in Japan. *Plant Diseases*, 90, 506–512.
- Djian-Caporalino, C., Molinari, S., Palloix, A., Ciancio, A., Fazari, A., Marteu, N., Ris, N. and Castagnone-Sereno, P. (2011). The reproductive potential of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* is affected by selection for virulence against major resistance genes from tomato and pepper. *Eur J Plant Pathol* 131, 431. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9820-4>
- Duque-Villegas, M., Marín-Montoya, M. and Gutiérrez, P.A. (2017). Genome comparison and primer design for detection of Tamarillo leaf malformation virus (TaLMV). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, doi.org/10.1080/03235408.2017.1370934.
- Enciso-Rodríguez, F., Martínez, R., Lobo, M. and Barrero, L.S. (2010). Genetic variation in the Solanaceae fruit bearing species lulo and tree tomato revealed by Conserved Ortholog (COSII) markers. *Genet Molec Biol*, 33, 271-278.
- Espinoza, D., Viera, W., Debut, A., Vásquez, W. and Ayala, L. (2017). Diagnosis de virus en tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) mediante RT-PCR y microscopía electrónica de transmisión en Pichincha y Tungurahua Provincias de Ecuador. *Agronomía Colombiana* 35(1), 35-43.
- Falconí, C. E., Visser, R. G. F. and van Heusden, A. W. (2013). Phenotypic, Molecular, and Pathological Characterization of *Colletotrichum acutatum* Associated with Andean Lupine and Tamarillo in the Ecuadorian Andes. *Plant Disease*, 97(6), 819–827.
- Gallo-García, Y., Marín-Montoya, M. and Gutiérrez, P.A. (2011). Obtention of specific antibodies for detection of Tamarillo leaf malformation virus (TaLMV) in tamarillo. *Acta Biol Colomb*, 16, 135–148.
- Gan, P., Ikeda, K., Irieda, H., Narusaka, M., O’Connell, R. J., Narusaka, Y., *et al.* (2013). Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal the hemibiotrophic stage shift of *Colletotrichum* fungi. *New Phytologist*, 197, 1236–1249. doi: 10.1111/nph.12085.
- Gan, P., Narusaka, M., Kumakura, N., Tsushima, A., Takano, Y., Narusaka, Y., *et al.* (2016). Genus-wide comparative genome analyses of *Colletotrichum* species reveal specific gene family losses and gains during adaptation to specific infection lifestyles. *Genome Biol. Evol.* 8, 1467–1481. doi: 10.1093/gbe/evw089.
- García, F., Obando, J., and Betancourt, C. (2004). Reconocimiento de especies de *Meloidogyne* en tomate de árbol (*Solanum betacea*) y lulo (*Solanum quitoense*) en la zona norte del departamento de Nariño. *Rev. Cien. Agric.* 11, 1-12.
- Gil, J.F., Ayala, M.L., Marín, M. and González, P. (2009). Serological identification of potyviruses in tamarillo crops (*Solanum betaceum* cav.) in Antioquia. *Rev Politécnica.* 5, 112–120.
- González, F. M., Gómez, L., Rodríguez, M. G., Piñón, M., Casanova, A., Gómez, O. and Rodríguez Y. (2010). Respuesta de genotipos de Solanáceas frente a *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood Raza 2 y *M. areanaria* (Neal) Chitwood. *Revista de Protección Vegetal* 25, 51-57.
- Gutiérrez, P.A., Alzate, J.F. and Marín-Montoya, M. (2014). Genome sequence of a virus isolate from tamarillo (*Solanum betaceum*) in Colombia: evidence for a new potyvirus. *Arch Virol.*, 160, 557–560.

- Gutiérrez, P.A., Alzate, J.F. and Marín-Montoya, M. (2015). Genome sequence of a virus isolate from tamarillo (*Solanum betaceum*) in Colombia: evidence for a new potyvirus. *Arch Virol* 160, 557–560.
- Insuasti, M. L., Ochoa, J. B., Martín, R. R., Alvarez, R. A. and Quito-Avila, D. F. (2016). First Report of Potato virus V and Peru tomato mosaic virus on Tamarillo (*Solanum betaceum*) Orchards of Ecuador. *Plant Diseases*, <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-15-1063-PDN>.
- Jaramillo, M., Gutiérrez, P.A., Lagos, L.E., Cotes, J.M. & Marín, M. (2011). Detection of a complex of viruses in tamarillo (*Solanum betaceum*) orchards in the Andean region of Colombia. *Tropical Plant Pathology*, 36, 3, 150-159.
- Kleemann, J., Rincon-Rivera, L. J., Takahara, H., Neumann, U., Ver Loren van Themaat, E., van der Does, H. C., *et al.* (2012). Sequential delivery of host-induced virulence effectors by appressoria and intracellular hyphae of the phytopathogen *Colletotrichum higginsianum*. *PLOS Pathog.* 8, e1002643. doi: 10.1371/journal.ppat.1002643.
- Kongtragoul, P., Nalumpang, S., Miyamoto, Y., Izumi, Y., & Akimitsu, K. (2011). Mutation at codon 198 of Tub2 gene for Carbendazim resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose in Thailand. *Journal of Plant Protection Research*, 57, 377–383.
- Li, M., Wunder, J., Bissoli, G., Scarponi, E., Gazzani, S., Barbaro, E., Saedler, H., Varotto, C. (2008). Development of COS genes as universally amplifiable markers for phylogenetic reconstructions of closely related plant species. *Cladistics* 24, 727–745. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2008.00207.x>.
- Lobo A., M., Medina C., C. I., y Cardona G., M. (2011). Resistencia de campo a la antracnosis de los frutos (*Colletotrichum gloeosporioides*) en tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav. Sendt.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 53(2), 1129-1142.
- Lozada, S., Varón de Agudelo, F. and Gómez, E. (2002). Nematodos asociados al tomate de árbol (*Solanum betacea*) en el Valle del Cauca. *Fitop. Col.* 26(2), 93 – 98.
- Mejía, D.M., Rodas, E.I., Patiño, L.F., González, E.P. (2009). Effect of Acibenzolar-S-methyl on the evolution of the virus disease of tamarillo. *Agron Colomb.* 27, 87–93.
- Mosquera-Espinosa, A.T. (2016). Fitonematodos asociados a *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn., *Solanum quitoense* Lam. y *Daucus carota* L. en el Departamento de Boyacá, Colombia. *Acta Agron.* 65 (1), 87-97.
- Múnera, G. E., Bert, W., Karssen, G., Couvreur, M., Waeyenberge, L., Vierstraete, A. R., and Decremer, W. (2010). Morphological and molecular characterisation of *Meloidogyne* populations associated with Andean fruits and Musa plants. *Abstract from Onta Meeting*, Quito, Ecuador
- Navarrete, X., Ron, L., Viteri, P., and Viera, W. (2018). Parasitism of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in five wild Solanaceae species. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 81, 8367-8373. doi:10.15446/rfna.v71n1.67122.
- O’Connell, R. J., Thon, M. R., Hacquard, S., Amyotte, S. G., Kleemann, J., Torres, M. F., *et al.* (2012). Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nat. Genet.* 44, 1060–1065. doi: 10.1038/ng.2372.

- Pardo-De la Hoza C. J., Calderon C., Rincon A.M., Cardenas M., Daniesa G., Lopez-Kleine L, Restrepo S. y Jimenez P. (2016). Species from the *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum boninense* and *Colletotrichum gloeosporioides* species complexes associated with tree tomato and mango crops in Colombia. *Plant Pathology*, 65, 227–237.
- Peñañiel, N., Arahana, V. and Torres, M. (2007). Evaluación de la diversidad genética del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en los cultivos de tres provincias del Ecuador por medio de marcadores microsatelites. Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, USFQ.
- Pratt, R.C., Francis, D.M., Meneses, L.S.B. (2008). Genomics of tropical solanaceous species: established and emerging crops. In: Moore, P.H., Ming, R. (Eds.), *Genomics of Tropical Crop Plants*. Springer, New York, pp. 453–467. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71219-2_19.
- Prohens, J. and Nuez, F. (2001). The tamarillo (*Cyphomandra betacea*). *Small Fruits Review*, 43-68. doi: 10.1300/J301v01n02_06.
- Prusky, D., Alkan, N., Mengiste, T., and Fluhr, R. (2013). Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 51, 155–176. doi: 10.1146/annurev-phyto-082712-102349.
- Ramírez, F., Grijalva, R., Navarrete, X. and Guerrero, R. (2015). Nematodos fitoparásitos asociados con tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) en las provincias de Imbabura. Pichincha y Tungurahua, Ecuador. *Revista Científica Ecuatoriana* 2, 48-53.
- Ramírez-Gil, J.G., Gil-Aguirre, A. and Morales-Osorio, J.G. (2017). Etiología de enfermedades del cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum* CAV.). *Rev. Protección Veg.*, 32(1), 33-51.
- Ramírez, F., Kallaracka, J. (2019). Tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) reproductive physiology: A review. *Scientia Horticulturae*, 248: 206–215.
- Rodriguez, R., and Redman, R. (2008). More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *J. Exp. Bot.* 59, 1109–1111. doi: 10.1093/jxb/erm342.
- Saldarriaga-Cardona, A., Castaño-Zapata, J. and Arango Isaza, R. (2008). Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. *Rev. Acad. Colomb. Cienc*, 32(123), 145-156.
- Schneider, W., Sherman, D., Stone, A., Damsteegt, V. and Frederick, R. (2004). Specific detection and quantification of Plum pox virus by real-time fluorescent reverse transcription-PCR. *Journal of Virological Methods*, 120, 97-105.
- Sivaprasad, Y., Viera, W., Patricia, G., and Orbe, K. (2015). First report of potato virus Y in tree tomato in Ecuador. *Journal of Plant Pathology*, 97, S67-S77.
- Sivaprasad, Y., Viera, W., Buitron, J., Orbe, K. and Ayala, L. (2016). First report of Potato leafroll virus in tree tomato in Ecuador. *Journal of Plant Pathology*, 98 (1), 171-185.
- Spetz, C., Taboada, A.M., Darwich, S., Ramsell, J., Salazar, L.F. and Valkonen, J. P. T. (2003). Molecular resolution of a complex of potyviruses infecting solanaceous crops at the centre of origin in Peru. *Journal of General Virology*, 84, 2565–2578.

Castro-Quezada, P., Palacios-Valdivieso, A., Díaz-Granda, L. (2020). Estado actual del uso de marcadores moleculares en el diagnóstico y control genético de enfermedades del tomate de árbol. *Bosques Latitud Cero*, 10(1), 106-119.

- Vargas, W. A., Martín, J. M., Rech, G. E., Rivera, L. P., Benito, E. P., Díaz-Mínguez, J. M., *et al.* (2012). Plant defense mechanisms are activated during biotrophic and necrotrophic development of *Colletotricum graminicola* in maize. *Plant Physiol.* 158, 1342–1358. doi: 10.1104/pp.111.190397.
- Vargas, Y., J. Nicolalde, W. Alcívar, L. Moncayo, C. Caicedo, J. Pico, L. Ron, and W. Viera. (2018). Response of wild Solanaceae to *Meloidogyne incognita* inoculation and its graft compatibility with tree tomato (*Solanum betaceum*). *Nematropica*, 48, 126-135.
- Vásquez, U. and Soria C. A. (2017). Nematodos parásitos asociados con tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) en la sierra del Ecuador. *Revista Ecuatoriana De Medicina Y Ciencias Biológicas*, 38, 2. doi.org/10.26807/remcb.v38i2.549.
- Viera-Arroyo, W., Sotomayor Correa, A. V., Tamba-Sandoval, M. V., Vásquez-Castillo, W. A., Martínez, A. M., Viteri-Díaz, P. F. y Ron, L. (2016). Estimación de parámetros de calidad del fruto para segregantes interespecíficos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) en respuesta de resistencia a la Antracnosis (*Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds). *Acta Agronomica*, 65(3), 304-311.
- Villares-Jibaja, M. X., Sánchez-Morales, J. A., Viera-Arroyo, W. F., Soria-Idrovo, N. A., Sotomayor-Correa, A. V., Yanez-Silva, D. F. and Martínez-Mora, E. O. (2018). Caracterización morfológica de frutos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* cav.) de una población. *Revista de Investigación Talentos Volumen*, 5(1), 9-19.
- Vizuete, B., Insuasti, M. L., Ochoa, J. and Ellis, M. (1990). Biological and serological characterization of tree tomato virus diseases in Ecuador. INIAP, Ohio State University.
- Yeturu, S., Viera, W., Garrido, P. and Insuasti, M. (2016). First report of Tomato spotted wilt virus infecting tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) in Ecuador. *Journal of Plant Pathology*, Vol. 98 No.3 pp.691 ref.1.