

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
Master Universitario Oficial en Ingeniería Agronómica



“EVALUACIÓN DE LÍNEAS DE MEJORA DE TOMATE (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) MUCHAMIEL CON RESISTENCIA GENÉTICA A VIRUS Y MENOR CARGA DE LIGAMIENTO DURANTE LOS AÑOS 2017 Y 2018”

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Marzo 2019

AUTOR: Jose Ángel Cabrera Miras

TUTOR: D. Santiago García Martínez

Evaluación de líneas de mejora de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Muchamiel con resistencia genética a virus y menor carga de ligamiento durante los años 2017 y 2018

Resumen:

Se ha estudiado el efecto de la carga de ligamiento relacionada con la introducción de genes de resistencia a TYLCV y ToMV, así como el efecto de la pérdida de carga de ligamiento debido al proceso de recombinación en dichos genes, en líneas de mejora Muchamiel. En ambos casos se estudiaron caracteres productivos y de calidad en los años 2017 y 2018.

La carga de ligamiento asociada al alelo de resistencia a TYLCV afectó significativamente a la mayoría de los caracteres estudiados. Tanto la línea sensible 94 como la línea recombinante 215 presentaron el mejor comportamiento en producción, peso medio y número de frutos. En el caso de la línea sensible, este hecho podría ser debido a la ausencia de TYLCV durante los ensayos. El efecto de la carga de ligamiento asociada al alelo de resistencia a ToMV no fue perceptible para la mayoría de los caracteres estudiados. Tanto la línea sensible 374 como la línea recombinante 412 presentaron un comportamiento similar. La línea resistente 412 presentó valores mayores que la sensible para algunos caracteres, aunque esto pudo deberse a la presencia de ToMV durante los ensayos.

Palabras clave: tomate, *Solanum lycopersicum*, recombinantes, carga de ligamiento, Muchamiel, resistencia a TYLCV, resistencia a ToMV.

Evaluation of tomato improvement lines (*Solanum lycopersicum* L.) Muchamiel with genetic resistance to virus and lower ligation load during the years 2017 and 2018

Abstract:

We studied the effect of gene linkage originated by the introgression of resistance genes to TYLCV and ToMV, as well as the effect of the loss of linked genome caused by the recombination process in the same genes, in Muchamiel breeding lines. In both cases, productive and quality characteristics were studied in years 2017 and 2018.

The genes linked to TYLCV resistance allele affected significantly to the most of the characters studied. Both the susceptible line 94 and the recombinant line 215 presented the best behavior in yield, average weight and number of fruits. In the case of the susceptible line, this fact may be due to the absence of TYLCV during the tests. The effect of genome linked to ToMV resistance allele was not noticeable for most of the characters studied. Both the

susceptible line 374 and the recombinant line 412 showed similar behavior. The resistant line 412 displayed higher values than the susceptible one for some characters, although it could be due to the presence of ToMV during the essays.

Keywords: tomato, *Solanum lycopersicum*, recombinant plants, linkage drag, Muchamiel, TYLCV resistance, ToMV resistance.



Índice

1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1. Referencia histórica del tomate.....	6
1.2. Origen y domesticación del tomate.....	7
1.3. Distribución del tomate.....	7
1.4. Situación taxonómica.....	11
1.5. Importancia económica del tomate.....	13
1.6. Características generales de los cultivares.....	14
1.6.1. Variedades híbridas.....	14
1.6.2. Variedades tradicionales.....	14
1.6.2.1. El tomate Muchamiel.....	16
1.6.3. Aspectos de calidad.....	16
1.7. Programa de mejora genética de la EPSO-UMH.....	17
1.7.1. Efecto de la introducción de resistencia genética a virus.....	21
1.7.2. Línea en la que se engloba el Trabajo Fin de Máster.....	22
2. OBJETIVOS.....	24
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1. Material vegetal utilizado.....	25
3.2. Métodos de cultivo.....	27
3.2.1. Instalaciones.....	27
3.3. Prácticas de cultivo.....	27
3.3.1. Semillero.....	27
3.3.2. Preparación del terreno.....	27
3.3.3. Trasplante.....	28
3.3.4. Marco de plantación.....	28
3.3.5. Entutorado y poda.....	28
3.3.6. Fertirrigación.....	29
3.3.7. Tratamientos fitosanitarios.....	30
3.3.8. Recolección.....	30
3.4. Planificación de los ensayos.....	31
3.4.1. Diseño experimental.....	31
3.5. Caracteres analizados en el ensayo.....	33
3.5.1. Caracteres productivos.....	33
3.5.1.1. Producción total.....	33

3.5.1.2. Peso medio total del fruto	33
3.5.1.3. Número de frutos total por planta.....	33
3.5.2 Caracteres de calidad.....	33
3.5.2.1. Sólidos solubles.....	33
3.5.2.2. Acidez.....	34
3.6. Modelo estadístico.....	35
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
4.1. Líneas 64 y 94.....	36
4.1.1. Pruebas de bondad de ajuste.....	37
4.1.2. Resultados del modelo lineal general de medidas repetidas (GML _{rep}).....	37
4.1.3. Discusión.....	39
4.2. Líneas 214 y 215.....	40
4.2.1. Prueba de bondad de ajuste.....	40
4.2.2. Resultados modelo lineal general de medidas repetidas (GML _{rep}).....	41
4.2.3. Discusión.....	42
4.3. Líneas 374 y 412.....	43
4.3.1. Prueba de bondad de ajuste.....	43
4.3.2. Resultados modelo lineal general de medidas repetidas (GML _{rep}).....	44
4.3.3. Discusión.....	45
4.4. Líneas 412 y 442.....	46
4.4.1. Prueba de bondad de ajuste.....	47
4.4.2. Resultados modelo lineal general de medidas repetidas (GML _{rep}).....	47
4.4.3. Discusión.....	49
5. CONCLUSIONES.....	50
6. BIBLIOGRAFÍA.....	51

1. INTRODUCCIÓN.

Con el transcurso de las décadas el tomate ha pasado de una simple hierba en las orillas de las milpas, a ser un cultivo de gran importancia económica mundial, debido a cambios en el propio material vegetal y en los sistemas de producción, comercialización y consumo.

Un mercado internacional cada vez más competitivo y el inexorable respeto al medio ambiente hacen del uso de la tecnología un reto singular, por lo que se pretende presentar los conocimientos agronómicos de una manera objetiva, de modo que se puedan definir distintas estrategias en función de una situación concreta. En este caso se hace referencia a la mejora genética de especies vegetales, en particular a la planta de tomate, *Solanum lycopersicum* L.

1.1. Referencia histórica del tomate.

El vocablo tomate procede del término *tomatl* (agua gorda o fruto con ombligo), pertenecientes a la lengua náhuatl de México, que se aplicaba de forma genérica a plantas con frutos globosos o bayas, con muchas semillas y pulpa acuosa (Williams, 1990; Montes y Aguirre, 1992; vito en Nuez, 1995). En náhuatl se añadían prefijos a *tomatl* para discernir entre las diferentes especies (Tabla 1.1). No obstante, cuando se usaba la expresión *tomatl* o tomate se hacía referencia a cualquiera de estas especies o bien a la más apreciada en aquella época, el tomate milpero o de cáscara *Physalis philadelfica* Lam. El prefijo correspondiente para *Solanum lycopersicum* L. era *xi-* (*xitomatl*) (Nuez, 1995).

La palabra tomate se introduce en la lengua castellana en 1532 (Corominas, 1990; visto en Nuez, 1995), por lo que en España se establece el término tomate, mientras que en algunas partes de México se sigue empleando el vocablo jitomate (Nuez, 1995)..

El tomate a partir del siglo XIX adquiere gran importancia económica mundial, llegando a ser junto con la patata, la hortaliza más difundida y predominante del mundo (Nuez, 1995).

Tabla 1.1. Vocablos náhuatl relacionados con *tomatl* citados en la *Historia general de las cosas de Nueva España* de Fray Bernardino de Sahagún (1577, ed. 1988).

Náhuatl	Castellano	Especie botánica
miltomatl	tomate de la milpa	<i>Physalis philadelfica</i>
tepetomatl	tomate del cerro	<i>Physalis</i> (?)
coztomatl	tomate amarillo	<i>Physalis costomatl</i>
xitomatl	tomate rojo, jitomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>
coyotomatl	tomate de coyote	<i>Vitex mollis</i>
xaltomatl	tomate de la arena	<i>Saracha jitomata</i>
tecomatl	tecomate	Planta medicinal (?) (también vasija semiesférica)

Fuente: J. Esquinas-Alcázar y F. Nuez, 1995.

1.2. Origen y domesticación del tomate.

Actualmente en la costa occidental de Sudamérica, concretamente en la región andina, compartida por Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile, donde crecen de forma espontánea numerosas especies silvestres en campos y zonas sin cultivar, se otorga el origen del género *Lycopersicon* (Nuez, 1995). Aunque aún no está claro el centro de origen exacto del tomate, hay algunos matices con un grado razonable de certeza (Rick, 1976, 1978; visto en Nuez, 1995), pudiendo atribuir al tomate cultivado su origen en el Nuevo Mundo puesto que no era conocido en Europa ni en el resto del Viejo Mundo antes del descubrimiento de América. Por otro lado, antes de la llegada del tomate a Asia y Europa, se presentaba con una amplia caracterización respecto a la forma, acostillado, tamaño, y color de los frutos.

El lugar donde se produjo la domesticación no se define de forma clara. *Mala peruviana* o *pomi del Perú*, nombres dados por algunos botánicos del s. XVI, suponían que la planta era proveniente de Perú donde presumiblemente se produjo su domesticación (Candolle, 1883; visto en Nuez, 1995). Sin base fundamentada para definir dichos nombres, hay motivos que inducen a creer que el origen de la domesticación de los tomates está en México (Nuez, 1995). Entre otros argumentos, antes de la llegada de los españoles a América, el pueblo azteca lo cultiva, comercializa y consume en una “amplia” variedad de formas, por lo que el tomate está muy integrado en la cultura azteca a diferencia de la región andina. Otra de las consideraciones es que el tomate no posee ningún nombre conocido en quechua, aymara o cualquier otro de los idiomas andinos, resultando que el nombre moderno tiene su origen en el de *tomatl*, en la lengua náhuatl de México (Nuez, 1995).

1.3. Distribución del tomate.

Se establece que el centro de origen del antiguo género *Lycopersicon* es la región andina, siendo México el lugar donde se produjo la domesticación (Figura 1.1). A principios del siglo XVI gracias a los viajes de Cristóbal Colón (Figura 1.2) se introduce el tomate en España junto con el maíz, la patata, el chile y la batata. Ya en el siglo XVII (Figura 1.1) no resulta extraño la presencia del tomate en la región de Asia Oriental, teniendo en cuenta que el primer asentamiento español en Filipinas capitaneado por el explorador guipuzcoano Miguel López de Legazpi ocurrió en 1565. Fue tardía la introducción del tomate en EE.UU (Figura 1.1), realizada por los colonos (Nuez, 1995). Jefferson hace referencia al cultivo del tomate en Virginia en 1782, pero no tuvo importancia real hasta finales del siglo XIX y principios del XX (Rick, 1978; visto en Nuez, 1995).

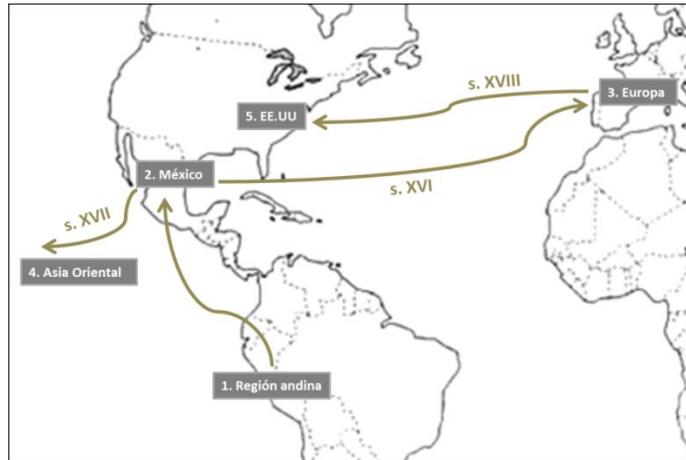


Figura 1.1. Centro de origen, domesticación y distribución del tomate. Elaboración propia.



Figura 1.2. Viajes de Cristóbal Colón. Fuente: Ricardo Ingelmo Casado, 2012.

Los españoles introdujeron el tomate en Europa después del descubrimiento de América. Esta hortaliza fue aceptada en Europa como ornamental por sus flores amarillas y sus bayas rojas o amarillas durante muchos años, debido a la creencia de que era una planta venenosa por su relación con los ejemplares de la familia de las solanáceas (familia que adoptó como táctica defensiva el desarrollo de una serie de complejos principios activos de elevada toxicidad) como el beleño o la belladona y por contener la tomatina entre otros alcaloides, que se encuentra en las hojas y en el fruto verde pero que se degrada con la maduración (Rodríguez., Tabares., Medina., 1984) . Esta creencia se mantuvo en algunos países como Alemania hasta la entrada del siglo XIX, aunque en España e Italia se utilizó en la alimentación humana prácticamente desde su introducción, quedando fuera de duda como un alimento saludable y no perjudicial para salud (Quer, 1762-84; visto en Nuez, 1995). Según C. y E. Boutelou (1801), a finales del siglo XVIII los tomates se cultivaban en todos los huertos y

jardines de España con notable abundancia, con una variedad de frutos aplastados y muy anchos y otra de fruto pequeño y redondo.

En 1544, el herborista italiano Pietro Andrea Gregorio Mattioli, muy conocido por sus traducciones del manuscrito *Materia Medica* (P. Dioscórides Anazarbeo, c. 40 – c. 90. Siglo I), en *Medici Senensis Commentarii* se refiriere a los frutos amarillos de la planta del tomate como *mala aurea* y *pomi d'oro* (manzana de oro), por lo que se cree que los primeros frutos llegados a Europa eran de color amarillo. Más adelante, en 1554, mencionó una variedad roja. El mismo año, R. Dodoens (1517-1585), un herborista holandés de mitad del s. XVI, realizó una descripción detallada del fruto sin preocuparse de los prejuicios de la época, atribuyéndole propiedades excitantes y afrodisíacas (Anderlini, 1983). Esto explica los nombres *ponme d'amour* en francés, *pomodoro* en italiano y *love apple* en inglés.

A través de sus colonias ultramarinas, los españoles y portugueses difundieron el tomate por el mundo, contribuyendo a ello posteriormente otras potencias y países. En la figura 1.3 se plasma de forma esquemática las posibles rutas de propagación del tomate desde el siglo XVI (Esquinas-Alcázar, 1981; visto en Nuez, 1995).

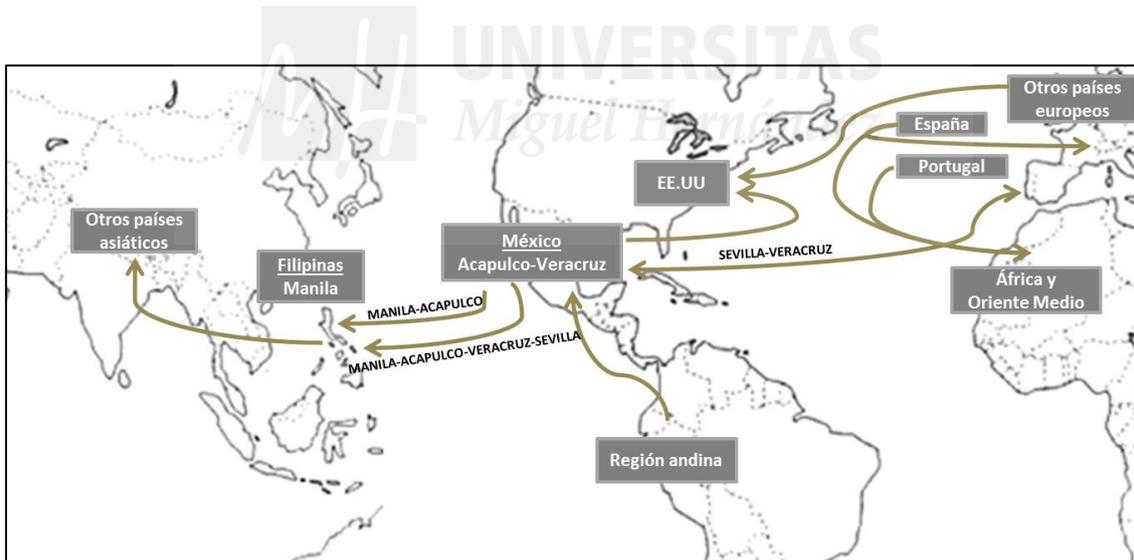


Figura 1.3. Posibles rutas de propagación del tomate desde el siglo XVI.
Fuente: Elaboración propia.

Los portugueses habían consolidado enclaves comerciales en el sur de la India. España conectaba con Manila, resto de países de Europa y también con África y Oriente Medio. Desde Manila a otros países asiáticos, y a EE.UU. le llega vía México y Europa. De esta forma se propaga el tomate desde el Imperio Inca al resto del nuevo y viejo mundo (Nuez, 1995).

En el siglo XV existía en el mundo occidental una gran atracción por las especias. En Europa no existía el té, ni el café, ni el chocolate, y el azúcar se presentaba muy escasa, por lo que otras especias como la pimienta y la canela eran muy codiciadas (Nuez, 1995). La caída de Constantinopla en manos de los turcos otomanos en 1453 otorgó a éstos el dominio sobre el Mediterráneo Oriental y sobre las zonas terrestres de paso obligado para la Ruta de la Seda, usada también desde el lejano oriente. España y Portugal, principalmente, comenzaron a idear exploraciones marítimas para hacerse con el negocio de las especias por mar y evitar así a los otomanos (Caramé, 2017). Portugal enfocó sus esfuerzos hacia África, donde el navegante Bartolomé Díaz en 1488 dobló el Cabo de Buena Esperanza abriendo la puerta a las expediciones en el océano Índico. En España, el visionario Cristóbal Colón se empeñó en llegar a las Indias Orientales navegando hacia el oeste, cuando el 12 de octubre de 1492 protagonizó uno de los mayores acontecimientos de la humanidad, el descubrimiento de América. De esta manera, tras el Tratado de Tordesillas en 1494, la costa africana y el actual Brasil quedaron en manos de portugueses mientras que el resto de América quedaba en manos españolas. Sólo 21 años después del descubrimiento del nuevo mundo, Vasco Núñez de Balboa se asoma al océano Pacífico nombrándolo *mar del Sur*, y al que durante la conquista de nuevos territorios durante el siglo XVI se le denomina *el lago español*, puesto que nadie más lo surcaba por no encontrar accesos a él fuera de las costas dominadas por España (Caramé, 2017).

En 1519, Hernando de Magallanes cruza por primera vez desde el Atlántico hasta el *mar del Sur*, buscando un acceso a las islas Molucas desde el este sin tener que atravesar la ruta portuguesa. Descubre el estrecho que lleva su nombre y accede al Pacífico evitando el peligroso Cabo de Hornos, recalando finalmente en 1521 en las islas Filipinas donde muere ese mismo año. Su piloto Juan Sebastián de Elcano continúa el viaje hasta llegar a las Molucas, completando a través de la ruta portuguesa la primera vuelta alrededor del mundo. Finalmente llegó a Sanlúcar en septiembre de 1522 a bordo de la nao Victoria. Con las informaciones dadas por Juan Sebastián de Elcano a Carlos I, éste ordena a Jofre de Loaysa conquistar las Molucas, por lo que en 1525 parte de La Coruña una expedición de siete naves a su mando en la que también participa Elcano. Los temporales en el estrecho de Magallanes propiciaron no conseguir el objetivo, muriendo entre otros muchos, Loaysa y Elcano principalmente de escorbuto. Del resto de marineros con vida, el primero en regresar a España fue Andrés de Urdaneta, a quien el destino le deparó una gran gloria años más tarde (Caramé, 2017).

Desde el descubrimiento de Filipinas en 1521 por Magallanes, fueron numerosos los españoles que recalaron en el archipiélago, pero su colonización comenzó en 1565 cuando el

explorador español miguel López de Legazpi, llegó desde nueva España y fundó el primer asentamiento español en la actual Cebú. En 1571 Manila, la capital de Filipinas y de las Indias Orientales, se convierte en Capitanía General dependiente del virreinato de Nueva España, desde donde España pudo controlar durante más de dos siglos sus territorios incorporados en el pacífico, advirtiendo las grandes posibilidades de comercio que tenían estas islas. Pero si ya era una odisea llegar, mucho peor era el regreso. La ruta portuguesa y la ruta de la Seda se descartan por las discrepancias con los lusos y los otomanos, y por el *mar del Sur* resultaba imposible al no ceñir a los vientos alisios los galeones, por tener aparejo redondo. El problema lo resuelve Andrés de Urdaneta a los casi 60 años de edad a primeros de junio de 1565, remontando latitud hacia Japón hasta recalar en América en el Cabo de Mendocinio, gracias al monzón del suroeste y a la corriente de Kuro-Siwo, para costear la península de California gracias a la corriente favorable y a los contralisios, llegando a Acapulco el 8 de octubre del mismo año. A partir de aquí, la ruta descubierta por Andrés Urdaneta permitió inaugurar una línea regular de galeones entre México y Filipinas estableciendo un comercio transpacífico, línea que recorría 15.500 millas náuticas y duraría dos siglos y medio siendo la más duradera de la historia. Pero esta ruta transpacífica no era más que una parte del trayecto completo de la línea comercial Manila-Acapulco-Veracruz-Sevilla, con un total de 25.000 millas náuticas y cruzando tres continentes y dos océanos, conectadas por una ruta terrestre que enlazaba Veracruz con Acapulco vía ciudad de México, conocida como camino de China (Caramé, 2017).

En el viaje de regreso a España las naves eran protegidas por la Guardia de la Carrera de Indias o también llamada Armada de la Avería, para recalar en Sanlúcar y desde allí subir el Guadalquivir hasta Sevilla. En 1717 el punto de partida y destino de las flotas se cambió de Sevilla a Cádiz, de más fácil acceso y evitando tanto la alta siniestralidad como el contrabando durante el tránsito por el Guadalquivir (Caramé, 2017). Por lo que en España, probablemente, el tomate llegó en primer lugar a Sevilla, que era uno de los principales centros del comercio internacional, en particular con Italia.

1.4. Situación taxonómica.

La primera descripción botánica del tomate la realizó Pietro Andrea Gregorio Mattioli (1501-1577), del jardín botánico de Padua (Italia), quien publicó su herbario en 1554 (Nuez, 1995). Sin embargo, el espécimen de tomate más antiguo conservado en un herbario hasta la fecha actual se encuentra en el herbario de Ulisse Aldrovandi (herbario considerado como la colección más antigua existente de las plantas prensadas, comenzado en 1551 y ampliado por Aldrovandi a lo largo de su vida), ahora conservado en el herbario del Jardín Botánico de

Bolonia (Peralta et al., 2008). Por lo tanto, la descripción botánica del tomate comenzó a mediados del siglo XVI. A partir de ese momento fue descrito en numerosos herbarios como el de Matthias de L'Obel en 1581, el de Gerard en Inglaterra en 1597 o el de Salmon ya en 1710 en Estados Unidos (Nuez, 1995).

Siempre se ha situado taxonómicamente al tomate en la familia de las solanáceas, aunque su ubicación genérica no ha sido así, se ha creado controversia. En 1700, Tournefort establece siete géneros reconociendo *Lycopersicon* como distinto de *Solanum*. Linnaeus (1754) en contra de la práctica común de su época incluyó *Lycopersicon* dentro del género *Solanum*. Simultáneamente Miller clasificó al tomate en el género *Lycopersicon* denominándolo *Lycopersicon esculentum* Mill. (1754) diferenciándolo así del género *Solanum*. Tanto Jussieu (1789) en su Genera Plantarum como Wettstein (1895), en su sinopsis sobre las solanáceas mantuvieron el criterio de Linnaeus (1754) (Nuez, 1995).

Actualmente los estudios moleculares más recientes han colocado al tomate, previamente clasificado como indicó Miller en el género *Lycopersicon*, dentro del género *Solanum*, pasándose a denominar *Solanum lycopersicum* L. (Knapp et al., 2004).

El tomate es una planta que presenta flores radiales y con cinco estambres. El ovario es súpero, bicarpelar, con numerosos primordios seminales, produciendo bayas polispermas. Los carpelos se presentan en posición oblicua con respecto al plano mediano de la flor. Con la domesticación y cultivo es frecuente observar flores con mayor número de pétalos y sépalos, así como ovarios multiloculares.

Siguiendo a Hunziker (1979), la taxonomía generalmente aceptada es:

Clase: *Dicotyledoneas*.

Orden: *Solanales (Personatae)*.

Familia: *Solanaceae*.

Subfamilia: *Solanoideae*.

Tribu: *Solaneae*.

Género: *Solanum*.

Especie: *lycopersicum*.

1.5. Importancia económica del tomate.

El tomate es una de las hortalizas más cultivada en todo el mundo y de mayor valor económico (Cuartero, 2001; visto en García-Martínez, 2006). A nivel mundial, la superficie cultivada en los últimos años ha alcanzado casi 5 millones de hectáreas, con una producción media de 176 millones de toneladas y un valor medio de la producción agrícola de 55.000 millones de euros. A nivel europeo, la superficie alcanza las 500 mil hectáreas, la producción media es de 24 millones de toneladas y el valor medio de la producción agrícola de 7.500 millones de euros. A nivel nacional, 62.500 hectáreas cosechadas, 5.200.000 toneladas y 1.519 millones de euros para el valor de la producción agrícola (FAOSTAT, 2019).

El tomate es un producto básico de la horticultura española, siendo la hortaliza con mayor superficie cultivada en España. Su producción también se sitúa entre las más altas, destacando que es un cultivo de alto rendimiento, puesto que supera a cultivos con mayor superficie como la patata, las naranjas o los melocotoneros. Exceptuando los cultivos de olivares y viñedos por presentar producciones mayores, el valor de producción del tomate es el mayor de todos los cultivos, lo que indica el alto valor de su producción (Tabla 1.2).

España participa con el 2,92% de la producción mundial, ocupando el octavo puesto, y con el 21,20% de la producción europea, situándose en el segundo lugar tras Italia (FAOSTAT, 2019). En España la mayor parte de la producción de tomate en fresco se concentra en Almería, Murcia, Alicante, Valencia y Canarias. En el caso del tomate de industria, se especializan en su producción Navarra, La Rioja, Zaragoza y Extremadura (García-Martínez, 2006).

Tabla 1.2. Datos de los principales cultivos en España en el año 2016.

Cultivo	Área cosechada (ha)	Producción (t)	Valor (€)
Tomate	62715	5233542	1.519.347.720
Melón	20686	649767	107.227.384
Lechuga y achicoria	35646	929944	382.645.736
Alcachofa	16045	225619	117.783.336
Patata	72136	2246204	311.383.688
Trigo	2256848	7873135	893.330.328
Maíz	359275	4069508	554.232.008
Naranja	142171	3673915	533.593.104
Limonero	41099	954479	299.273.216
Manzano	30872	621164	220.682.176
Melocotones y nectarinas	85320	1421678	732.961.592
Viñedo	940154	5950719	2.985.058.208
Olivar	2521694	7082550	4.622.216.632

Fuente: base de datos de agricultura de la FAO. FAOSTAT, 2019.

1.6. Características generales de los cultivares.

Los cultivares de tomate suelen ser de naturaleza híbrida (especialmente los dedicados al cultivo intensivo) incorporando diversas resistencias a patógenos, ofreciendo frutos con buena presentación y/o calidad y adaptados a las cadenas de producción-consumo (Nuez, 1995).

1.6.1. Variedades híbridas.

La mayor parte de los cultivos intensivos se realizan con híbridos F_1 (producto resultante del cruzamiento entre dos líneas puras diferentes, obteniendo un híbrido de primera generación en el que se puede mantener el proceso de hibridación), con alto rendimiento, uniformidad y capacidad para cuajar en condiciones de estrés. Permiten acumular resistencias a varias enfermedades pero no pueden multiplicarse por semillas, ya que segregan perdiendo parte de sus cualidades, por lo que el agricultor se ve obligado a comprar la semilla en cada campaña (Nuez, 1995).

1.6.2. Variedades tradicionales.

El aspecto de los frutos de los cultivares tradicionales, su uniformidad, y la resistencia de la planta a patógenos, son deficientes en muchos casos. Por el contrario, generalmente presentan una excelente calidad organoléptica.

Las variedades tradicionales proporcionan un valor añadido adicional, ya que no sólo son producidas localmente, sino que fomentan la biodiversidad y recuperan sabores y tradiciones, perdidos ante el auge de los cultivos comerciales. Son el resultado de selección y mejora realizada a lo largo del tiempo por los agricultores para la obtención de semilla y posterior uso en la campaña siguiente (García, 1999; Guzmán *et al.*, 2000; Cebolla y Nuez, 2005).

La adaptación a la zona de cultivo, la adecuación a los ámbitos de consumo y otros aspectos relacionados con las características organolépticas, han sido fundamentalmente los criterios de selección, obteniendo así, a través del tiempo, grupos varietales especialmente adaptados a cada ambiente y con productos muy apreciados en los mercados a los que se destinaban (García-Martínez, 2006).

Las principales características de estas variedades tradicionales son:

La ubicación geográfica, que hace referencia a la pertenencia a una zona geográfica delimitada (Almekinders *et al.*, 1994).

La heterogeneidad, al ser una de las características más importantes de las variedades tradicionales su considerable variación de fenotipo, si se comparan con las variedades comerciales (Amurrio *et al.*, 1993).

La selección local de los agricultores, ya que estas variedades no son algo estático, sino que presentan una diversidad y un dinamismo que, bajo la presión del hombre y la naturaleza, han evolucionado en el tiempo (Hawtin *et al.*, 1996).

A partir de la segunda mitad de siglo XX, con la Revolución Verde, causada por la necesidad creciente de alimentos debido al incremento de la población mundial, las variedades tradicionales se fueron sustituyendo paulatinamente por la entrada al mercado de las semillas híbridas, conseguidas mediante la selección genética para la obtención de variedades de alto rendimiento, más asociadas éstas a la explotación intensiva (Ceccon, 2008).

Los parámetros que han primado la selección de semillas para el cultivo de tomate han sido fundamentalmente los de resistencia, productividad y alargamiento de la vida comercial de los frutos, obteniéndose así variedades comerciales de diseño. Estas variedades han desplazado el cultivo de variedades tradicionales locales al ser menos rentables para los agricultores, poniendo en peligro su conservación y, por ende, la biodiversidad de los ecosistemas agrarios.

La búsqueda de uniformidad en los mercados agrarios, la desaparición de las pequeñas unidades de autoconsumo, la exclusiva comercialización de las casas de semillas y el número reducido de especies que le reportan beneficios, también ha ayudado al desplazamiento de las variedades tradicionales (Nuez y Ruiz, 1999).

Todos estos factores han influido en gran medida en que las variedades tradicionales puedan desaparecer en un futuro próximo, debido a las desventajas que suponen frente a las nuevas variedades tanto para el agricultor como para el consumidor y el mercado.

En el sureste español se encuentran presentes diversas variedades tradicionales de tomate (Figura 1.4), como el “*Muchamiel*” de Alicante, el “*De la pera*” y “*Cherry*” de la Vega Baja del Segura, el “*Tres cantos*” de Elche, el “*Valenciano*”, los “*tomates morunos*” o el “*Flor de Baladre*” de Murcia (García-Martínez, 2006).



Figura 1.4. Frutos de variedades tradicionales del sureste español. De izquierda a derecha: Morunos, Valencianos, De la pera y Muchamiel.

Fuente: García-Martínez, 2006.

1.6.2.1. El tomate Muchamiel.

El tomate Muchamiel es una de las variedades más emblemáticas y reconocidas en la provincia de Alicante de donde es originaria, concretamente de la localidad de Muchamiel, aunque su cultivo se ha ido abandonando por la susceptibilidad a distintos tipos de virus. Se trata de una variedad tradicional local, por tanto, su nombre es conocido en prácticamente toda España. Es muy posiblemente la variedad tradicional de tomate más conocida, muy apreciada por su calidad organoléptica (García-Martínez, 2006).

No existe un único tipo de tomate Muchamiel, sino que hay ligeras variantes que mantienen cierta diversidad, como consecuencia lógica de haber sido seleccionada por los agricultores durante muchos años. El tipo varietal “Muchamiel” está formado por un conjunto de variedades tradicionales de tomate que tienen el fruto grande, aplastado, más o menos rizado (Figura 1.5), que se cultivan fundamentalmente en Alicante, Valencia y Murcia (García-Martínez, 2006).



Figura 1.5. Frutos del tipo varietal Muchamiel en el estado de maduración óptimo de consumo, con distintas formas y colores. De izquierda a derecha: muy fasciada, rosados, aperados, arriñonados y redondeados. Fuente: García-Martínez, 2006.

Su sabor es suave y su textura muy agradable, algunos catadores expertos describen el tomate Muchamiel como de textura “melosa”. A diferencia de las actuales variedades híbridas de tomate, suele presentar una zona blanca en el centro, o “corazón”, lo cual puede suponer un inconveniente para algunos consumidores (García-Martínez, 2006).

Su principal uso es el consumo en fresco, y tienen unas excepcionales características organolépticas. Sin embargo, son sensibles a todas las virosis que afectan al tomate, lo que hace prácticamente imposible su cultivo.

1.6.3. Aspectos de calidad.

El mercado cada vez es más exigente debido a que el consumidor demanda productos de calidad libres de contaminantes, siendo necesario algo más que una buena presentación. Esta insatisfacción por el tomate en fresco ha ido incrementándose a lo largo de las últimas décadas. Hasta hace aproximadamente dos décadas se hacía más énfasis a la calidad externa que a la interna, dirigiéndose la tendencia en estos momentos a la inversa (Nuez, 1995).

Algunas de las deficiencias de calidad de las nuevas variedades son fruto de las restricciones económicas y temporales. Además de realizar la recolección en un estado excesivamente verde del fruto y cultivar fuera de estación, entre otras, una de las causas que afecta a la pérdida de calidad se enfoca en los propios programas de mejora genética. Los programas que utilizan la hibridación y selección en generaciones segregantes, pierden parte de las buenas características de los progenitores, especialmente de las características de naturaleza poligénica y de difícil evaluación como lo es la calidad. También, en la técnica de retrocruzamiento, referida al cruce entre un individuo y uno de sus padres para recuperar genoma del progenitor, contribuye a la pérdida de calidad por la necesidad de lanzar al mercado las nuevas variedades, lo que limita el número de ciclos de retrocruzamiento y el grado de recuperación del genotipo parental. Esta situación es frecuente al introducir genes de resistencia a patógenos en cultivares tradicionales de alto valor agronómico (Nuez, 1995).

La calidad incluye tanto aspectos externos como el tamaño, forma, color, ausencia de manchas y defectos, uniformidad y marcas características como el acostillado, como aspectos internos relacionados con el sabor, aroma, contenido en vitaminas, color y consistencia de la carne, acidez y contenido en sólidos solubles.

Principalmente, el sabor del tomate viene determinado por el contenido de azúcares y ácidos. Los azúcares glucosa y fructosa constituyen el 65% de los sólidos solubles, mientras que el resto está constituido principalmente por los ácidos cítrico y málico, minerales, lípidos y un conjunto de compuestos a bajas concentraciones. En consecuencia, el incremento en el contenido de sólidos solubles resulta en un aumento en el sabor (Jones y Scott, 1983; visto en Nuez, 1995).

1.7. Programa de mejora genética de la EPSO-UMH.

La mejora genética vegetal se puede definir como ciencia y tecnología destinada a producir nuevos cultivares cambiando su genotipo, y mejorándolo para un determinado medio según las necesidades y aprovechamientos para los que vayan destinados de acuerdo con las necesidades del hombre (Frankel, 1958).

Según Hoyos *et al.*, (2005), los caracteres importantes para la mejora del tomate en fresco se pueden clasificar en:

Aumento de la producción.

Resistencia a estreses bióticos: plagas y enfermedades.

Tolerancia a estreses abióticos: condiciones ambientales adversas.

Arquitectura de la planta adecuada al tipo de cultivo, recolección, etc.

Calidad del fruto: externa (forma, tamaño, color, ausencia de fisiopatías) e interna (dureza, sabor, aroma, compuestos saludables).

La mejora genética de variedades es esencialmente una selección de plantas escogidas dentro de una población en la cual existe variabilidad, es decir, la mejora sólo es posible debido a la existencia de variabilidad.

La baja variabilidad genética del tomate es un serio problema para su mejora genética, que se puede solucionar con el uso de especies silvestres incluyendo los ancestros de los cultivos y aquellas más alejadas filogenéticamente. Estas proveen a los mejoradores de plantas de una amplia reserva de genes potencialmente útiles. El valor agronómico prácticamente nulo de estas especies ha propiciado el aprovechamiento de genes mayores capaces de manifestar su efecto de forma clara y completa, eliminando el fondo genético no deseable por métodos de retrocruzamiento.

Históricamente los genes más utilizados han sido los de resistencia a enfermedades, sobre todo los dominantes. Según Hajjar y Hodgkin (2007) hasta el 80% de las especies silvestres utilizadas en mejora, son utilizadas por sus resistencias a plagas y enfermedades.

En 1998 empezó en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela de la Universidad Miguel Hernández un programa de mejora para la introducción de genes de resistencia a las tres virosis más importantes que afectan al cultivo del tomate en el sureste español: ToMV (*tomato mosaic virus* o virus del mosaico del tomate), TSWV (*tomato spotted wilt virus* o virus del bronceado del tomate) y TYLCV (*tomato yellow leaf curl virus* o virus del encrespamiento amarillo de la hoja de tomate). El método elegido fue una introgresión asistida por marcadores moleculares. Las etapas que comprende este programa de mejora son las siguientes:

Caracterización agronómica de las variedades tradicionales y de la fuente de resistencia.

Realización de cruzamientos.

Realización de retrocruzamientos.

Fijación de los genes de resistencia.

Selección de las mejores líneas.

Inscripción en el registro de variedades.

Se han empleado marcadores moleculares para la selección precoz de individuos portadores de todos los genes de interés. En las distintas generaciones de retrocruzamiento se han empleado de forma complementaria la selección genotípica, mediante marcadores, y la selección fenotípica. Esta selección fenotípica se realiza para obtener, entre las plantas portadoras de los genes de interés (según los marcadores empleados), aquellas que no manifiesten síntomas de la virosis y que tengan mejores características de cuajado, tamaño de fruto, uniformidad, producción, etc. Ambas técnicas no son excluyentes, habiéndose confirmado que el resultado óptimo se obtiene empleando una combinación de las dos técnicas (García-García P., 2004).

El Registro de Variedades Protegidas se creó para proteger los derechos del obtentor. En el pasado, las variedades vegetales se obtenían por los propios agricultores y se transmitían de generación en generación, sin ningún problema. Pero desde hace varios años la obtención de nuevas variedades fue obra de técnicos especializados, normalmente trabajando para empresas de producción de semillas. El hecho de que un competidor desleal se apropiara de las líneas de otro obtentor ha sido una realidad, lo que propició el desarrollo de una legislación sobre esta materia, elaborada en los países desarrollados durante la segunda mitad del siglo XX (Cubero, 2003). En 2011 se iniciaron los trámites para la inscripción en los Registros de Variedades Comerciales y Protegidas de las primeras obtenciones del Programa de Mejora.

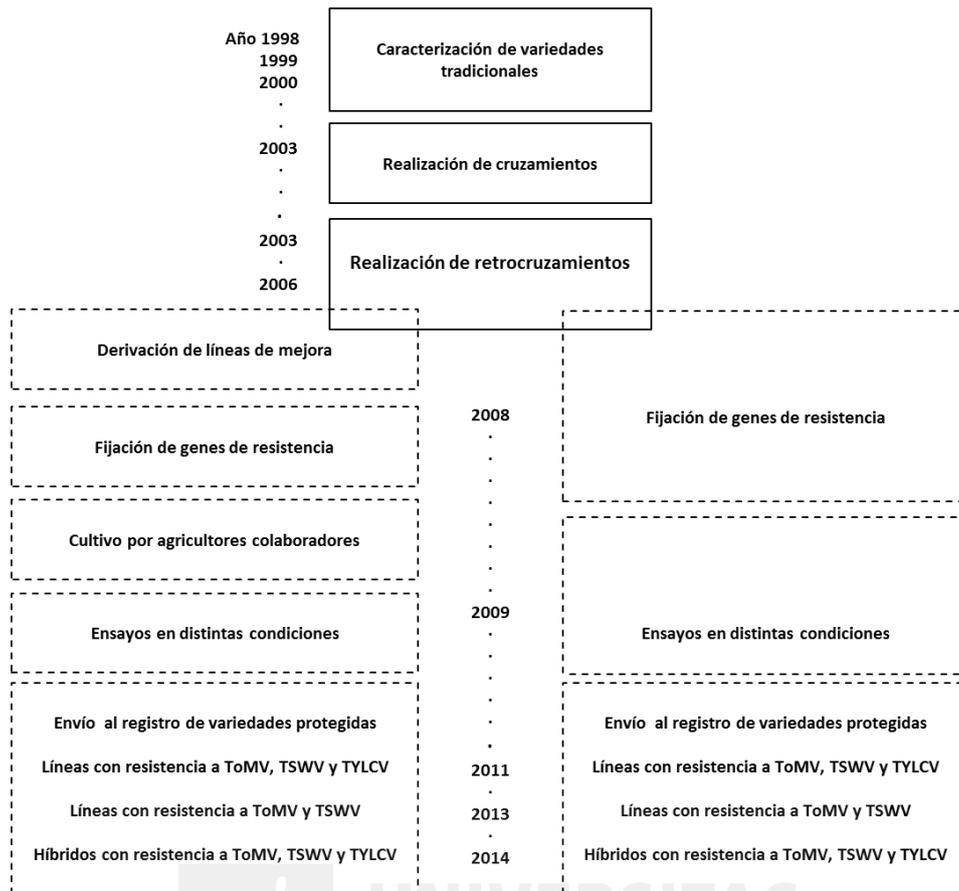


Figura 1.6. Esquema con las etapas del programa de mejora.

En 2013 se concedieron los primeros Títulos de Obtención Vegetal (TOV) de líneas procedentes del programa de mejora de la EPSO-UMH, las líneas UMH 1200 (tipo Muchamiel) y UMH 1203 (tipo De la pera), ambas con resistencia en homocigosis a los 3 virus (Tabla 4). También se han obtenido líneas de mejora sólo con resistencia a ToMV y TSWV (y por lo tanto sin resistencia a TYLCV), así como con resistencia sólo a ToMV, cuyos TOV fueron concedidos en 2017. También se han desarrollado híbridos, con resistencia a los tres virus en heterocigosis (Tabla 1.3).

Tabla 1.3. Líneas de mejora inscritas en el Registro de Variedades Protegidas, con su genotipo para los tres genes de resistencia a virus.

Tipo varietal	Línea	Resistencias	Envío	Obtención título
		ToMV-TYLCV-TSWV		
Muchamiel	UMH 1200	RR-RR-RR	2011	2013
Muchamiel	UMH 1139	RR-ss-RR	2013	2017
Híbrido Muchamiel	UMH 1101 x IF	Rs-Rs-Rs	2014	2017
De la pera	UMH 1203	RR-RR-RR	2011	2013
De la pera	UMH 1422	RR-ss-ss	2013	2017
De la pera	UMH 1415	RR-ss-RR	2013	2017
De la pera	UMH 1353	RR-ss-RR	2013	2017
De la pera	UMH 1354	RR-ss-RR	2013	2017
Cherry	UMH 1401	RR-ss-RR	2015	2018
Pera moruno	UMH 1209	RR-RR-RR	2015	2018
Pera moruno	UMH 1155	RR-ss-RR	2017	-
Híbrido	UMH 1200 x BfT	Rs-Rs-Rs	2017	-
Híbrido	UMH 1200 x Costoluto	Rs-Rs-Rs	2017	-

1.7.1. Efecto de la introducción de resistencia genética a virus.

En los programas de mejora, las especies silvestres son prácticamente la única fuente de resistencia a plagas y enfermedades. El uso de material, de especies silvestres relacionadas con el tomate, para mejorar una variedad puede estar dificultado por la basura de ligamiento, por genes indeseables que se transfieren junto al gen de interés (Figura 5).

En un programa de retrocruzamiento es muy difícil conseguir recuperar todo el genoma de la variedad, por lo que suele quedar genoma del parental que tiene la característica de interés además del gen de interés. A este fragmento de cromosoma introducido que no es el gen de interés se le denomina carga o basura de ligamiento. En ese resto del fragmento puede haber genes que no afecten al comportamiento agronómico de la planta, pero también puede haber genes que tengan un efecto negativo sobre alguna o algunas características de interés. El número de genes que no son el de interés y que pueden tener efectos desfavorables depende del tamaño del fragmento (Figura 1.7).

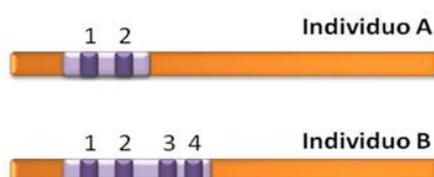


Figura 1.7. Representación de los fragmentos introgresados (en color morado) en dos individuos (cuyo genoma aparece en naranja). Los números corresponden a distintos genes, y en ambos casos el gen de interés es el número 1. Los restantes genes no son de interés, y en alguna ocasión pueden tener un efecto desfavorable.

Hay varios trabajos donde se ha comprobado el efecto negativo de la introducción de genes procedentes de especies silvestres relacionadas con el tomate cultivado. Tanksley *et al.* (1998) observaron leves reducciones en producción y calidad asociadas a la introducción de resistencia a ToMV en tomate. Brouwer and St.Clair (2004) encontraron que el fragmento de cromosoma de la especie *S. hirsutum* que confiere resistencia a *Phytophthora infestans* contenía alelos perjudiciales en caracteres agronómicos importantes. Más recientemente, Verlaan *et al.* (2011) demostraron que en gran parte del cromosoma 6 de *S. chilense* (donde se encontró el gen *Ty-1*, que confiere resistencia a TYLCV) la recombinación con el tomate cultivado es muy baja, debido a dos reordenaciones cromosómicas ocurridas en *S. chilense*. Este hecho dificultaría la eliminación del cromosoma de la especie silvestre durante los retrocruzamientos.

En varios trabajos del Grupo de Biodiversidad Agrícola y Mejora Genética de Variedades de la UMH se ha observado el efecto negativo de la introducción de resistencia a TYLCV sobre caracteres productivos y de calidad. Las líneas Muchamiel UMH 1200 y De la pera UMH 1203 son homocigotas a los tres virus, y pueden sufrir una reducción considerablemente la producción (hasta el 40%), especialmente en ausencia de TYLCV, que se puede conseguir en cultivo en invernadero. Rubio *et al.* (2016) estudió el efecto de la introducción simultánea de los genes de resistencia a ToMV, TSWV y TYLCV, siendo este último el que tenía un mayor efecto negativo, tanto en caracteres productivos como de calidad.

Para intentar superar este inconveniente se han obtenido líneas sin resistencia a TYLCV, como se indicó en la tabla anterior. Estas líneas sin resistencia a TYLCV pueden ser interesantes para su cultivo en ausencia del virus, condiciones que se pueden conseguir en invernadero con un control adecuado, especialmente en el ciclo de primavera, en el que la incidencia de TYLCV es menor (García-Martínez *et al.*, 2014; García-Martínez *et al.*, 2015; García-Martínez *et al.*, 2016).

Todas estas líneas de mejora tienen los genes de resistencia en homocigosis, por lo que las semillas que se obtienen de esas plantas son iguales, y pueden ser cultivadas por los agricultores año tras año, siempre que se haga una buena selección.

1.7.2. Línea en la que se engloba el Trabajo Fin de Máster.

Este trabajo fin de Máster forma parte del proyecto europeo “Traditional tomato varieties and cultural practices: a case for agricultural diversification with impact on food security and health of European population”, coordinado por el Dr. Antonio Granell del (IBMCP), centro mixto de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV) y el Consejo Superior de

Investigaciones Científicas (CSIC), en el que participa el Grupo de Biodiversidad Agrícola y Mejora Genética de Variedades de la EPSO-UMH, junto con grupos de investigación de Inglaterra, Francia, Holanda, Italia, Grecia, Israel y España. Su periodo de realización es de 3 años (2015 a 2017).

Uno de los objetivos del proyecto es la obtención de individuos recombinantes con menor carga de ligamiento, manteniendo los genes *Ty-1* en el cromosoma 6 y el *Tm-2^a*, en el cromosoma 9, que confieren resistencia a TYLCV y ToMV respectivamente. A partir de 2016 empezó el proceso para obtener y evaluar estas plantas recombinantes, utilizando material avanzado obtenido en el Programa de Mejora Genética de Tomate de la EPSO-UMH. El proceso aparece resumido en la Figura 3.1 de Materiales y métodos.

Este trabajo forma parte de la primera evaluación de caracteres productivos, de calidad, organoléptico y el perfil aromático de estos recombinantes. Los resultados preliminares son interesantes. Si se confirman estos resultados, estos materiales podrán utilizarse para obtener líneas con los genes de resistencia en homocigosis con una producción competitiva. Recientemente, con esta estrategia Hutton y Scott (2017) han obtenido una nueva línea de tomate cherry.



2. OBJETIVOS.

Los objetivos de este trabajo son:

Estudiar el efecto de la carga de ligamiento por la introducción de la resistencia a TYLCV y ToMV en líneas de mejora Muchamiel.

Estudiar el efecto de la pérdida de carga de ligamiento por el proceso de recombinación a TYLCV y ToMV en líneas de mejora Muchamiel.

En ambos casos se estudian caracteres productivos (producción, peso medio y número de frutos) y de calidad (sólidos solubles y acidez) para los años 2017 y 2018.



3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Material vegetal utilizado.

En los dos ensayos realizados en 2017 y en 2018 se ha utilizado el mismo material vegetal. Se trata de siete líneas de tomate Muchamiel pertenecientes a cuatro familias (Tabla 3.1). Dichas líneas se han obtenido dentro del proyecto europeo TRADITOM, a partir de una planta con diez retrocruces triple heterocigota para los genes de resistencia introducidos (Figura 3.1).

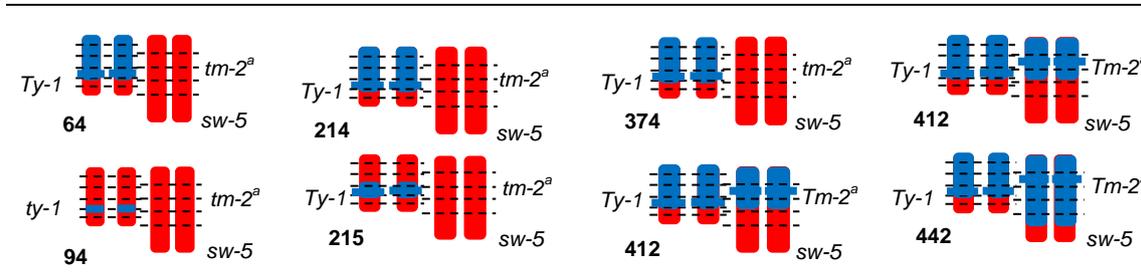
El proceso de obtención se realizó en varios ciclos de cultivo. En ellos se utilizaron marcadores moleculares para seleccionar las plantas con los fragmentos recombinantes con los genes de resistencia, primero en heterocigosis y después en homocigosis.

Las familias se obtuvieron a partir de los individuos recombinantes, seleccionando líneas complementarias, que sólo difieran en una región, comprobando su genotipo para los tres genes de resistencia. Está previsto realizar un genotipado masivo de todas las líneas, para encontrar posibles diferencias para el resto de regiones.

Tabla 3.1. Líneas estudiadas, con su resistencia a virus y representación gráfica de los cromosomas 6 y 9. En rojo se representa el genoma de la variedad tradicional y en azul el de la fuente de resistencia (*S. chilense* en el cromosoma 6 y *S. peruvianum* en el cromosoma 9).

Familia	Línea	Resistencia a TYLCV y tamaño de región (MB)	Resistencia a ToMV y tamaño de región (MB)	Resistencia a TSWV y tamaño de región (MB)
M322	64	Resistente (35)	Sensible (0)	Sensible (0)
	94	Sensible (2)	Sensible (0)	Sensible (0)
M902	214	Resistente (35)	Sensible (0)	Sensible (0)
	215	Resistente (2)	Sensible (0)	Sensible (0)
M422	374	Resistente (35)	Sensible (0)	Sensible (0)
	412	Resistente (35)	Resistente (40-50)	Sensible (0)
M947	442	Resistente (35)	Resistente (50-60)	Sensible (0)

Representación gráfica de los cromosomas (6 a la izquierda y 9 a la derecha)



A continuación, en la figura 3.1, se muestra la secuencia de obtención de las líneas recombinantes con menor carga de ligamiento.

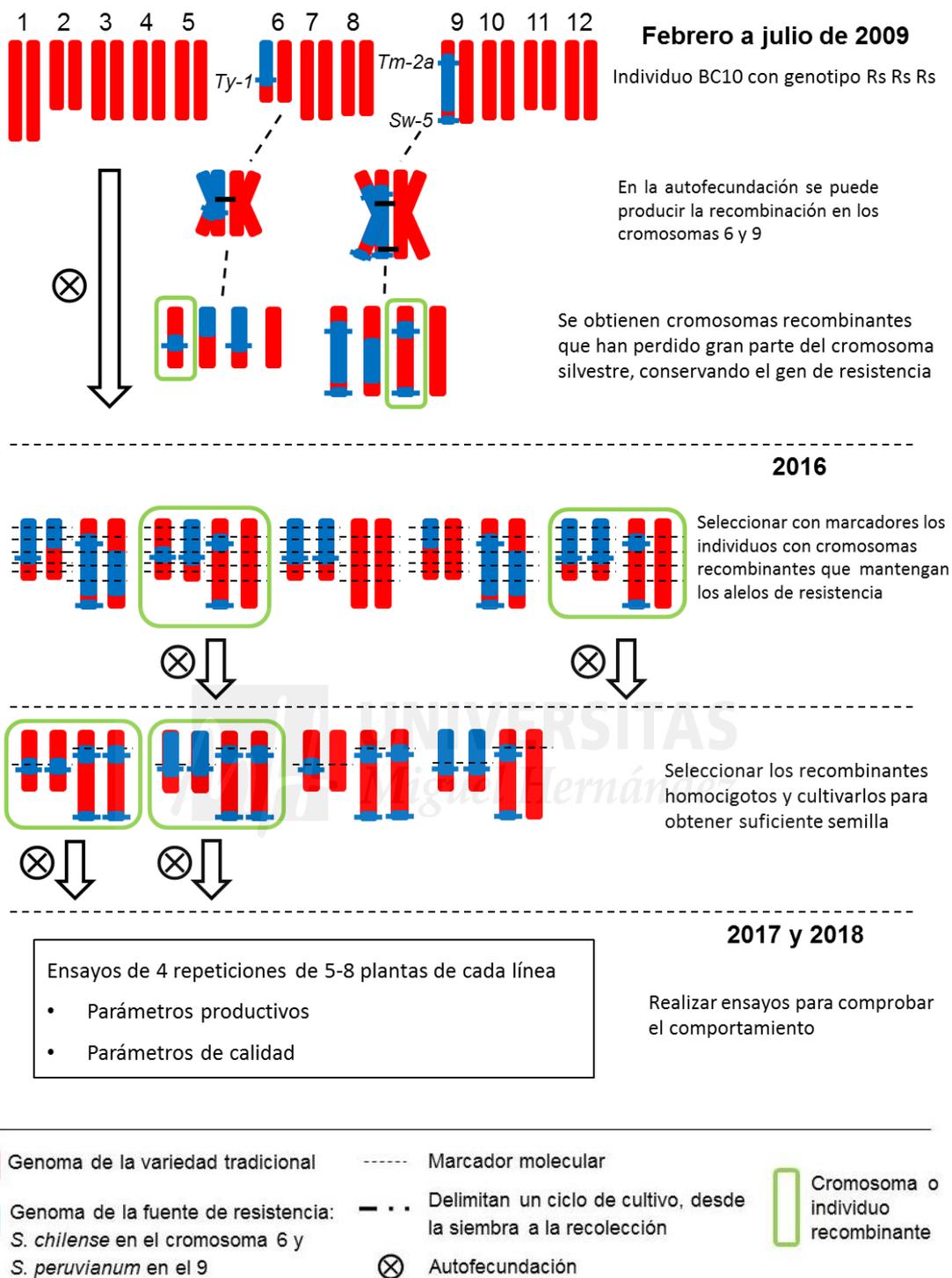


Figura 3.1. Obtención de las líneas recombinantes con menor carga de ligamiento.

3.2. Métodos de cultivo.

Tanto en el año 2017 como en el año 2018 se cultivan las mismas plantas en un invernadero de malla de la EPSO-UMH. Para cada uno de los años se realiza el cultivo bajo las mismas condiciones, pudiendo variar las condiciones de cultivo de un año a otro (se tiene en cuenta los posibles cambios en el modelo estadístico utilizado para los análisis de la varianza).

3.2.1. Instalaciones.

Los cultivos se realizan en un invernadero de malla (o invernadero cortavientos) multicapilla. La malla es de monofilamento transcarnado de densidad 6 x 9 o 10 x 16, según la zona, y un faldón perimetral de plástico 800 galgas (Figura 3.2). Sus dimensiones son las siguientes: 26 m de ancho, 36 m de profundidad, 4 m de altura hasta el canal, y 5 m hasta la cumbrera.



Figura 3.2. Invernadero de malla de la EPSO-UMH donde se realizan los ensayos.

3.3. Prácticas de cultivo.

A continuación se describen cada una de las diferentes prácticas de cultivo llevadas a cabo en los ensayos, siendo las mismas en los dos años.

3.3.1. Semillero.

La siembra se realiza en los semilleros José y Belén, empresa situada en Albaterra perteneciente a la provincia de Alicante. Se utilizan bandejas de poliestireno expandido de 150 alvéolos. Se emplea en los diferentes semilleros como substrato turba rubia (80%) y turba negra (20%) enriquecida con fertilizantes.

3.3.2. Preparación del terreno.

El suelo se desinfecta utilizando metam-sodio, tres meses antes del trasplante. Se aplican 2,5 kg/m² de estiércol comercial de oveja, en pellet, como abonado de fondo. Antes de realizar el trasplante, se da una labor de subsolador y otra de fresadora. Se utiliza film de

polietileno negro como acolchado para reducir el desarrollo de malas hierbas y mantener la humedad del suelo.

3.3.3 Trasplante.

El trasplante se realiza cuando las plántulas alcanzan entre 40-45 días, con la ayuda de un plantador “tipo pato”.

3.3.4 Marco de plantación.

Las plantas se disponen en 2 filas pareadas, separadas 50 cm. Dichas filas tienen 2 metros de separación entre ejes, y la separación entre plantas es de 0,4 metros, con lo que se obtiene una densidad de 2,5 pl/m² (figura 3.3).



Figura 3.3. Disposición de plantas en los ensayos.

3.3.5. Entutorado y poda.

Para el entutorado se emplean hilos de rafia, sujetos al emparrillado de alambre de la parte superior de la estructura. Para sujetar el tallo al hilo de rafia se emplean anillas de plástico (Figura 3.4).

El sistema de poda elegido en los dos años es el de una guía o tallo. Los brotes laterales (o axilares) se eliminan cada 10-12 días.

Con el objeto de no transmitir el virus del mosaico del tomate entre las plantas de las variedades tradicionales, que son sensibles, los cuchillos se limpian con lejía de forma frecuente durante las labores de poda.



Figura 3.4. Entutorado con anillas y rafia.

3.3.6. Fertirrigación.

El agua de riego utilizada en la EPSO en el cultivo procede del río Segura, y es almacenada en la balsa de la finca.

Se ha utilizado riego localizado por goteo. Los emisores son autocompensantes, y tienen un caudal de 1,6 l/h.

El riego variaba en función de la fase de desarrollo de cultivo, al igual que la fertilización, distinguiéndose 3 fases:

Fase 1: Desde la plantación hasta la aparición del tercer racimo floral.

Fase 2: Final de la fase 1 hasta el viraje de color de los primeros frutos.

Fase 3: Final de la fase 3 hasta el final del cultivo.

La fórmula de abonado durante el cultivo fue la siguiente:

$375 \text{ N} - 225 \text{ P}_2\text{O}_5 - 550 \text{ K}_2\text{O} - 190 \text{ CaO}$.

La distribución de estas unidades fertilizantes a lo largo del cultivo siguió las siguientes proporciones:

Fase 1: $1 \text{ N} - 2 \text{ P}_2\text{O}_5 - 1 \text{ K}_2\text{O} - 1 \text{ CaO}$.

Fase 2: $1 \text{ N} - 1 \text{ P}_2\text{O}_5 - 1 \text{ K}_2\text{O} - 1 \text{ CaO}$.

Fase 3: $1 \text{ N} - 0.3 \text{ P}_2\text{O}_5 - 2 \text{ K}_2\text{O} - 1 \text{ CaO}$.

Para cubrir las necesidades de micronutrientes durante el cultivo se aportaron distintos productos, que aparecen en la tabla 3.2.

Tabla 3.2. Productos con aporte de micronutrientes.

Nombre comercial	Composición
Pitca	Calcio 6%
Isabion Riego	N 5,7% + P 5,4% + Aminoácidos 6%
Brotomax	N, P, K (5-0-0) Urea, cobre (1,75%), Manganeso (0,75%), Zinc (0,5%)

3.3.7. Tratamientos fitosanitarios.

Los tratamientos fitosanitarios se realizaban cada 10-15 días. Las plagas con mayor incidencia durante el ensayo fueron; trips (*Frankliniella occidentalis*), mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y tuta (*Tuta absoluta*). Otras plagas y enfermedades con menor incidencia durante el ensayo fueron plusia (*Chrysodeixis chalcites*), araña roja (*Tetranychus urticae*), oídio o mancha amarilla (*Leveillula taurica*) y vasates (*Aculops lycopersici*). Los productos utilizados durante el cultivo se muestran en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Productos para tratamientos fitosanitarios utilizados en el cultivo.

Nombre Comercial	Materia Activa
Aphox	Pirimicarb 50% [WG] p/p
Bacillus B-Tec 32	<i>Bacillusthuringiensis</i>
Bravo 50 SC	Clortalonil 50% p/v
Cal Ex Avance	Abamectina
Costar	Bacillus thuringiensis 18% w/w
DoamMojante	Alcohol Isotrideciloetoxilado 20%
Doryoku	Etoxazol 11% [SC] p/v
Eradiocoat	Maltodextrina 59,8% p/v
Feromona <i>Tuta absoluta</i>	Feromona
Kumulus DF	Azufre 80%
Movento O-Teq	Spirotetramat 15% p/v
Oberon	Spiromesifen 24% p/v
Reldan	Metil clorpirifos 22,4 % p/v
Ridomil Gold MZ Pepite	Mancozeb 64% p/p + Metalaxyl-M 3.9% p/p
Rufast Avance	Acrinatrín 7.5% p/v
Voliam targo	Abamectina 1,8 % + Clorantraniliprole 4,5 % [SC] p/v

3.3.8. Recolección.

La recolección de los frutos se realizaba semanalmente, cuando estos tenían al menos la mitad de la superficie de color rojo.

3.4. Planificación de los ensayos.

A continuación se muestran las fechas en las que se realizaron las labores más importantes del ensayo, siembra, trasplante, recolecciones (donde se efectúa la toma de datos de los caracteres agronómicos como producción total, peso medio de los frutos y número de frutos por planta), y análisis de sólidos solubles y acidez (referentes a los caracteres de calidad).

Tabla 3.4. Fechas en las que se realizan las labores más importantes de los ensayos.

Fecha año 2017	Fecha año 2018	Labor
15/02/2017	05/02/2018	Siembra
28/03/2017	27/03/2018	Trasplante
25/04/2017	24/04/2018	Entutorado
28/06/2017	03/07/2018	1 recolección
30/06/2017	10/07/2018	2 recolección
05/07/2017	17/07/2018	3 recolección
12/07/2017	24/07/2018	4 recolección
19/07/2017	31/07/2018	5 recolección
26/07/2017	-	6 recolección
25/09 al 17/10 de 2017	25/09 al 01/10 de 2018	Análisis sólidos solubles y acidez

3.4.1. Diseño experimental.

En los ensayos se disponen 4 repeticiones de 5 a 8 plantas de cada línea (Figura 3.5 y 3.6). Al principio y al final de cada línea se ponen dos plantas de híbrido para reducir el efecto borde.

3.5. Caracteres analizados en el ensayo.

3.5.1. Caracteres productivos.

3.5.1.1. Producción total.

Se calcula como la suma de todos frutos recolectados de cada planta, expresándose en g/planta.

3.5.1.2. Peso medio total del fruto

Se calcula como la media de todos los frutos recolectados. Las medidas fueron tomadas en gramos, sin decimales.

3.5.1.3. Número de frutos total por planta

Se contabilizan uno a uno los frutos de cada planta después de cada recolección, anotando el número de frutos y su fecha de recogida.

3.5.2 Caracteres de calidad.

3.5.2.1. Sólidos solubles.

Los valores de sólidos solubles y acidez vienen determinados por el estado de maduración de los frutos, por lo que es muy importante que los frutos analizados tengan un estado de maduración lo más homogéneo posible. Por lo que, tras la recolección se seleccionaban frutos completamente maduros (Figura 3.7), lo más homogéneos posibles en cuanto a maduración de cada línea, para medir los sólidos solubles y la acidez en el laboratorio. Para cada una de las repeticiones de cada línea, se seleccionaban entre 3 y 4 frutos, que se cortaban en trozos, para triturarlos con una batidora doméstica.

El triturado se guardaba en tubos de 50 ml, etiquetados con el nombre de la línea y la repetición, guardados en un congelador a -18 °C para su posterior análisis, en septiembre de 2017 y 2018.

Para medir el contenido de sólidos solubles y acidez, tras descongelar las muestras, se centrifugan a 4.000 rpm durante 1 minuto, tras comprobar un peso equilibrado de las muestras. Posteriormente se elimina la mayor parte de la pulpa, y tras equilibrarlas de nuevo, se vuelve a centrifugar a 4.000 rpm durante 6 minutos. El sobrenadante de cada tubo, sin pulpa, se utiliza para realizar la medida por duplicado.

Los sólidos solubles están constituidos en su mayor parte por azúcares, los más abundantes son la glucosa y la fructosa que se encuentran en proporciones similares. Los

sólidos solubles se miden por duplicado con un refractómetro digital Atago (Figura 3.7), expresándose el resultado en grados Brix ($^{\circ}$ Brix).



Figura 3.7. izda. Frutos seleccionados para la medición del contenido de sólidos solubles y acidez de la línea 94, al lado los tubos falcon. Los frutos descartados por no presentar homogeneidad de maduración se separan, situándose sobre las bolsas de plástico. dcha. Refractómetro.

3.5.2.2. Acidez.

Este parámetro se analiza a partir del sobrenadante, sin pulpa, obtenido tras la centrifugación, que se utiliza también para medir el contenido de sólidos solubles.

La acidez se valora por duplicado, con NaOH en concentración de 0,1 N hasta pH 8,01 con un pHmetro pHmatic 23 CRISON (Figura 3.8), expresándose en gramos de ácido por cada 100 gramos de tejido fresco.



Figura 3.8. pHmetro pHmatic 23 CRISON.

3.6. Modelo estadístico.

En primer lugar, se realiza el test de Shapiro-Wilk o en su caso el de Kolmogorov-Sminrov para comprobar la normalidad de los datos y el test mejorado de Levene para comprobar la homogeneidad de varianzas. A continuación se ha realizado un análisis de la varianza atendiendo al modelo lineal generalizado de medidas repetidas, que se muestra como uno de los análisis dentro del grupo de herramientas de análisis estadísticos (ANOVA). Se trata de un análisis sobre la varianza en el que se comprueba si hay diferencias significativas en diferentes grupos tomando como punto de partida una variable cuantitativa utilizada como variable dependiente. La diferencia respecto al ANOVA unifactorial es que se trabaja con más de una variable independiente, y en relación al ANOVA factorial, en el cual se trabaja con más de una variable independiente, la diferencia es que en el modelo lineal generalizado de muestras repetidas, se realiza la comparación entre grupos y la comparación entre momentos, distantes en el tiempo. Es decir, es un análisis de varianza en el que se comparan las mediciones de una o varias variables cuantitativas en base a grupos de muestras independientes y momentos diferentes de muestras relacionadas. Por tanto, para realizar el análisis se tienen al mismo tiempo grupos y momentos, donde se comparan por separado los efectos de cada una de las variables independientes y los efectos de las interacciones de dichas variables independientes.

Con el análisis de la varianza GML_{rep} , se asume el error del factor año al no poder ser éste controlado, contrarrestando los posibles efectos que den lugar a una interpretación errónea, descartando los falsos positivos y los falsos negativos. Es aplicado a las distintas líneas de mejora de los dos ensayos, uno en 2017 y otro en 2018. Si se encuentran diferencias significativas en las comparaciones por separado de las variables independientes, para establecer la diferencia significativa entre los valores medios de cada tratamiento (separación de medias), se aplica el test de Bonferroni. Si por el contrario la interacción entre las variables independientes es significativa, independientemente de la significación que pueda presentar cada variable por separado, para la separación de medias se hace uso de las gráficas de interacción.

Los análisis se realizan con el software IBM SPSS Statistics 24.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En base a los resultados obtenidos de los 2 ensayos (año 2017 y año 2018), analizados de forma conjunta y por parejas de líneas, se exponen los resultados y se procede a la interpretación y discusión de los mismos para cada uno de los parámetros estudiados.

Estudiando los datos del análisis GML_{rep}, si la interacción no es significativa se realiza la separación de medias a posteriori mediante el test de Bonferroni. Si la interacción es significativa se procede a la interpretación del gráfico de interacción para el estudio de la separación de medias.

La interacción sucede cuando el efecto de una variable independiente cambia dependiendo del nivel de una segunda variable independiente. Se destaca que la variable independiente principal (el factor línea) se representa en el eje de abscisas. La variable independiente condicionante (factor año) es la variable bajo cuyas condiciones se da la principal.

4.1. Líneas 64 y 94.

La línea 64 presenta para el cromosoma seis una región genómica de 35 MB de *S. chilense* que contiene el alelo *Ty-1*, el cual confiere resistencia a TYLCV. La línea 94, con sólo entre 2 MB de la misma especie silvestre, es sensible por no presentar dicho alelo de resistencia, puesto que el proceso de recombinación ha provocado la pérdida del mismo.

Con el análisis de estas dos líneas se estudia cual es el efecto de la carga de ligamiento como consecuencia de la introducción del alelo de resistencia a TYLCV en el genoma de la planta.

A continuación, en el punto 4.1.1 se muestran las pruebas de bondad de ajuste según los datos recogidos durante los ensayos, en el punto 4.1.2 se exponen los resultados obtenidos en el análisis estadístico así como los test de Bonferroni y las gráficas de interacción utilizadas para la separación de medias, y en el punto 4.1.3 con el objeto de aclarar dichos resultados se procede a la discusión de los mismos. En el análisis estadístico la significación se resalta mediante asteriscos (uno, dos o tres en función del nivel de significación), en los test de Bonferroni la significación se identifica mediante letras diferentes en mayúscula, y en las gráficas de interacción de forma visual. Respecto a estos tres puntos se sigue la misma dinámica para el resto de las diferentes parejas de líneas analizadas.

4.1.1. Pruebas de bondad de ajuste.

Las pruebas de normalidad para todas las variables dependientes estudiadas, realizadas mediante el test de Shapiro-Wilk, indican que los datos presentan una distribución normal. De forma análoga ocurre lo mismo para la homogeneidad de varianzas mediante el test mejorado de Levene, exceptuando los casos de las variables producción y acidez para los datos del 2018 donde las varianzas no son homogéneas.

Tabla 4.1. Pruebas de bondad de ajuste para las líneas 64 y 94.

Caracteres de producción							
Año	Línea	Producción		Peso medio		Número de frutos	
		<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Levene</i>	<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Levene</i>	<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Levene</i>
2017	64	0,148	0,146	0,208	0,522	0,534	0,782
	94	0,056		0,872		0,446	
2018	64	0,593	0,037	0,485	0,140	0,086	0,582
	94	0,897		0,475		0,776	

Caracteres de calidad					
Año	Línea	Sólidos solubles		Acidez	
		<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Levene</i>	<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Levene</i>
2017	64	0,387	0,146	0,326	0,664
	94	0,850		0,152	
2018	64	0,134	0,480	0,944	0,031
	94	0,817		0,308	

4.1.2. Resultados del modelo lineal general de medidas repetidas (GML_{rep}).

La tabla 4.3 resume los resultados obtenidos en el análisis estadístico y el nivel de significación para cada uno de ellos, junto con las comparaciones por pares realizadas para la separación de medias mediante el test de Bonferroni. Seguidamente, se exponen las gráficas de interacción para la interpretación de la separación de medias en los casos dónde la interacción se muestra significativa.

Tabla 4.2. Resultados del análisis GML_{rep} y del test de Bonferroni para las líneas 64 y 94.

<i>Análisis estadístico. Significación (p-valor)</i>			
Caracteres de producción			
	Producción	Peso medio	Número de frutos
Línea	0,000 ***	0,000 ***	0,003 **
Año	0,009 **	0,000 ***	0,637 n.s
Año x línea	0,022 *	0,063 n.s	0,277 n.s

Caracteres de calidad			
	Sólidos solubles	Acidez	
Línea	0,587 n.s	0,027 *	
Año	0,000 ***	0,527 ns	
Año x línea	0,000 ***	0,672 ns	

<i>Comparaciones por pares Bonferroni. Significación (p-valor)</i>			
Caracteres de producción			
	Producción	Peso medio	Número de frutos
Línea 64		82,1 A	23,5 A
Línea 94	G. interacción	122,0 B	27,7 B
Año 2017		112,3 A	25,6 A
Año 2018		91,7 B	25,6 A

Caracteres de calidad			
	Sólidos solubles	Acidez	
Línea 64		0,375 A	
Línea 94	G. interacción	0,414 B	
Año 2017		0,391 A	
Año 2018		0,398 A	

A continuación se exponen los gráficos de interacción para la producción y el contenido de sólidos solubles, caracteres cuya interacción ha sido significativa.

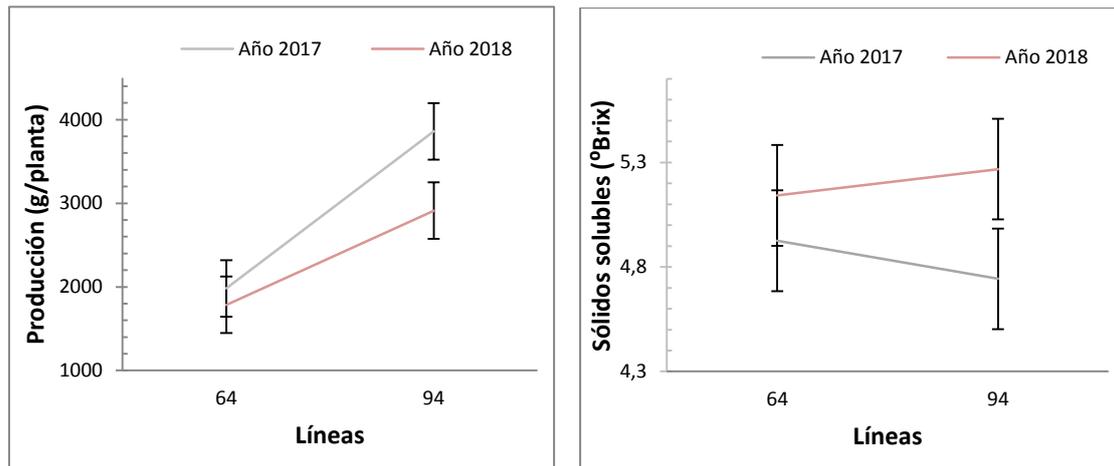


Figura 4.1. Gráficos de interacción de los caracteres producción y sólidos solubles para las líneas 64 y 94.

4.1.3. Discusión.

Como se observa en las gráficas de interacción, respecto a la producción, se muestra que existen diferencias significativas entre las líneas para los dos años, siendo mayor la producción en la línea 94. Por tanto, la carga de ligamiento asociada al alelo *Ty-1* que confiere resistencia a TYLCV es determinante para este carácter productivo. Este resultado es similar al obtenido por Rubio *et al.* (2016), dónde, estudiando una colección de tomate Muchamiel y De la pera con genes de resistencia a ToMV, TYLCV y TSWV, obtuvo una reducción entre el 40 y el 55% en las líneas con resistencia a TYLCV con respecto a las sensibles al mismo virus, por lo que el fragmento de 35 MB del cromosoma 6 con genoma de la especie *S. chilense* reduce la producción, siempre que no se produzca la infección de TYLCV. En la línea 64 no existen diferencias significativas en los dos años, al contrario de lo que ocurre en la línea 94 para el año 2017. Estas diferencias pueden ser originadas por las diferentes condiciones de cultivo que pueden establecerse de un año a otro.

Para el contenido de sólidos solubles, no se han encontrado diferencias significativas entre las líneas en ninguno de los dos años, lo que sugiere que la carga de ligamiento no es determinante en este carácter de calidad. En el programa de mejora de la EPSO-UMH se han obtenido resultados similares (Rubio *et al.*, 2016). Por otro lado en la línea 64 no existen diferencias significativas en los dos años, al contrario de lo que ocurre en la línea 94 con un mayor valor para el año 2018. Estas diferencias pueden ser originadas por las diferentes condiciones de cultivo que pueden establecerse de un año a otro.

En los test de Bonferroni, para los caracteres peso medio, número de frutos y acidez, indican diferencias significativas entre las líneas, siendo el valor mayor obtenido en los tres casos por la línea 94. Por tanto, la carga de ligamiento asociada al alelo *Ty-1* que confiere

resistencia a TYLCV es determinante para estos caracteres. Para el carácter peso medio se encuentran diferencias significativas entre los años, indicando un mayor valor en el año 2017. Estas diferencias pueden ser originadas por las diferentes condiciones de cultivo que pueden establecerse de un año a otro. No se encuentran diferencias significativas entre los años en los caracteres número de frutos y acidez. Se concluye con lo expuesto por Rubio *et al.* (2016), la similitud de los resultados obtenidos en estos ensayos.

4.2. Líneas 214 y 215.

La línea 214 presenta para el cromosoma seis una región genómica de 35 MB de *S. chilense* que contiene el alelo *Ty-1*, el cual confiere resistencia a TYLCV. La línea 215, con sólo 2 MB de la misma especie silvestre, es resistente por presentar dicho alelo de resistencia. En este caso, con el efecto de la recombinación en el cromosoma 6, se ha conseguido disminuir gran parte de la carga de ligamiento si perder el alelo de resistencia a TYLCV. Por tanto, con el análisis de estas dos líneas se estudia cual es el efecto de la pérdida de carga de ligamiento durante el proceso de recombinación.

4.2.1. Prueba de bondad de ajuste.

Las pruebas de normalidad para todas las variables dependientes estudiadas, realizadas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov, indican que los datos no presentan una distribución normal en referencia a la línea 214 en el año 2017 para peso medio y sólidos solubles, y en el año 2018 para producción y número de frutos. Para la línea 215 tampoco se cumple la normalidad en el año 2018 para peso medio y número de frutos. La homogeneidad de varianzas mediante el test mejorado de Levene, no es homogénea en el año 2017 para producción y en el año 2018 para peso medio y número de frutos.

Tabla 4.3. Prueba de bondad de ajuste para las líneas 214 y 215.

Caracteres de producción							
Año	Línea	Producción		Peso medio		Número de frutos	
		<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>
2017	214	0,200	0,007	0,021	0,655	0,057	0,095
	215	0,200		0,067		0,087	
2018	214	0,033	0,095	0,200	0,016	0,003	0,032
	215	0,200		0,001		0,042	

Caracteres de calidad					
Año	Línea	Sólidos solubles		Acidez	
		<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>
2017	214	0,033	0,200	0,200	0,469
	215	0,141		0,113	
2018	214	0,200	0,452	0,200	0,735
	215	0,200		0,200	

4.2.2. Resultados modelo lineal general de medidas repetidas (GML_{rep}).

La tabla 4.4 resume los resultados obtenidos en el análisis estadístico y el nivel de significación para cada uno de ellos, junto con el test de Bonferroni, utilizado para todos los casos en la separación de medias, al no ser significativa la interacción en ninguno de los parámetros estudiados.

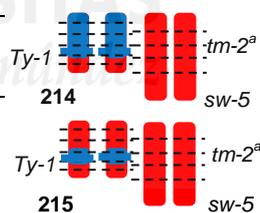
Tabla 4.4. Resultados del análisis GMLrep y del test de Bonferroni para las líneas 214 y 215.

<i>Análisis estadístico. Significación (p-valor)</i>			
Caracteres de producción			
	Producción	Peso medio	Número de frutos
Línea	0,000 ***	0,009 **	0,000 ***
Año	0,317 n.s	0,207 n.s	0,144 n.s
Año x línea	0,369 n.s	0,534 n.s	0,283 n.s

Caracteres de calidad		
	Sólidos solubles	Acidez
Línea	0,429 n.s	0,034 *
Año	0,000 ***	0,815 n.s
Año x línea	0,057 n.s	0,097 n.s

<i>Comparaciones por pares Bonferroni. Significación (p-valor)</i>			
Caracteres de producción			
	Producción	Peso medio	Número de frutos
Línea 214	675,6 A	133,7 A	7,3 A
Línea 215	2129,4 B	164,9 B	13,9 B
Año 2017	1454,1 A	144,9 A	11,3 A
Año 2018	1350,9 A	153,7 A	9,9 A

Caracteres de calidad		
	Sólidos solubles	Acidez
Línea 214	4,8 A	0,334 A
Línea 215	4,9 A	0,377 B
Año 2017	4,6 A	0,355 A
Año 2018	5,2 B	0,355 A



4.2.3. Discusión.

Existen diferencias significativas entre las líneas para todos los caracteres estudiados excepto para sólidos solubles, obteniendo la línea 215 el valor más alto. Por tanto, la pérdida de carga de ligamiento asociada al alelo *Ty-1* el cual confiere resistencia a TYLCV, obtenida por recombinación, es determinante para estos caracteres y no lo es para sólidos solubles. Estos resultados se contrastan con los obtenidos en años anteriores por ensayos realizados por el Grupo de Mejora Genética de la EPSO-UMH, con otras líneas recombinantes Muchamiel y De la pera (Vañó *et al.*, 2018), encontrando unos resultados muy parecidos, donde el efecto del fragmento de la especie silvestre sobre sólidos solubles es menor que en los parámetros productivos estudiados. Entre los años solo se han encontrado diferencias significativas en el carácter sólidos solubles, donde el año 2018 supera al 2017. Las diferencias entre los años posiblemente se deban a las condiciones de cultivo.

4.3. Líneas 374 y 412.

La línea 374 y 412 presentan para el cromosoma seis una región genómica de 35 MB de *S. chilense* que contiene el alelo *Ty-1*, el cual confiere resistencia a TYLCV. La línea 374 no presenta en el cromosoma nueve ningún fragmento de la especie silvestre, y es sensible a ToMV por no presentar el alelo de resistencia para este virus. Por el contrario, el cromosoma nueve de la línea 412 muestra una región genómica de entre 40 y 50 MB de *S. peruvianum* que contiene el alelo *Tm-2^a*, el cual confiere resistencia a ToMV. Dicho lo cual, con el análisis de estas dos líneas se estudia cual es el efecto de la carga de ligamiento como consecuencia de la introducción del alelo de resistencia a ToMV en el genoma de la planta.

4.3.1. Prueba de bondad de ajuste.

Las pruebas de normalidad para todas las variables dependientes estudiadas, realizadas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov, indican que casi en todos los datos se presenta una distribución normal. La distribución no es normal en el año 2017 para la línea 412 y la variable número de frutos, y tampoco es normal en el año 2018 en las variables de calidad sólidos solubles y acidez. La homogeneidad de varianzas mediante el test mejorado de Levene no es homogénea en el año 2017 para producción, y en el año 2018 para peso medio y sólidos solubles.

Tabla 4.5. Prueba de bondad de ajuste para las líneas 374 y 412.

Caracteres de producción							
Año	Línea	Producción		Peso medio		Número de frutos	
		Kolmogorov-Smirnov	Levene	Kolmogorov-Smirnov	Levene	Kolmogorov-Smirnov	Levene
2017	374	0,200	0,015	0,200	0,535	0,200	0,149
	412	0,200		0,200		0,028	
2018	374	0,200	0,379	0,192	0,015	0,200	0,731
	412	0,200		0,200		0,200	

Caracteres de calidad					
Año	Línea	Sólidos solubles		Acidez	
		Kolmogorov-Smirnov	Levene	Kolmogorov-Smirnov	Levene
2017	374	0,200	0,189	0,182	0,136
	412	0,195		0,200	
2018	374	0,200	0,022	0,200	0,288
	412	0,016		0,027	

4.3.2. Resultados modelo lineal general de medidas repetidas (GML_{rep}).

La tabla 4.6 resume los resultados obtenidos en el análisis estadístico y el nivel de significación para cada uno de ellos, junto con las comparaciones por pares realizadas para la separación de medias mediante el test de Bonferroni. Seguidamente, se exponen las gráficas de interacción para la interpretación de la separación de medias en los casos dónde la interacción se muestra significativa.

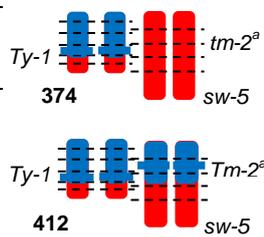
Tabla 4.6. Resultados del análisis GML_{rep} y del test de Bonferroni para las líneas 374 y 412.

<i>Análisis estadístico. Significación (p-valor)</i>			
Caracteres de producción			
	Producción	Peso medio	Número de frutos
Línea	0,000 ***	0,000 ***	0,000 ***
Año	0,948 n.s	0,829 n.s	0,827 n.s
Año x línea	0,016 *	0,659 n.s	0,024 *

Caracteres de calidad		
	Sólidos solubles	Acidez
Línea	0,954 n.s	0,589 n.s
Año	0,943 n.s	0,004 **
Año x línea	0,034 *	0,175 n.s

<i>Comparaciones por pares Bonferroni. Significación (p-valor)</i>			
Caracteres de producción			
	Producción	Peso medio	Número de frutos
Línea 374		67,7 A	
Línea 412	G. interacción	91,4 B	G. interacción
Año 2017		79,4 A	
Año 2018		79,7 A	

Caracteres de calidad		
	Sólidos solubles	Acidez
Línea 374		0,313 A
Línea 412	G. interacción	0,307 A
Año 2017		0,293 A
Año 2018		0,327 B



A continuación se exponen los gráficos de interacción para la producción y el contenido de sólidos solubles, caracteres cuya interacción resulta significativa.

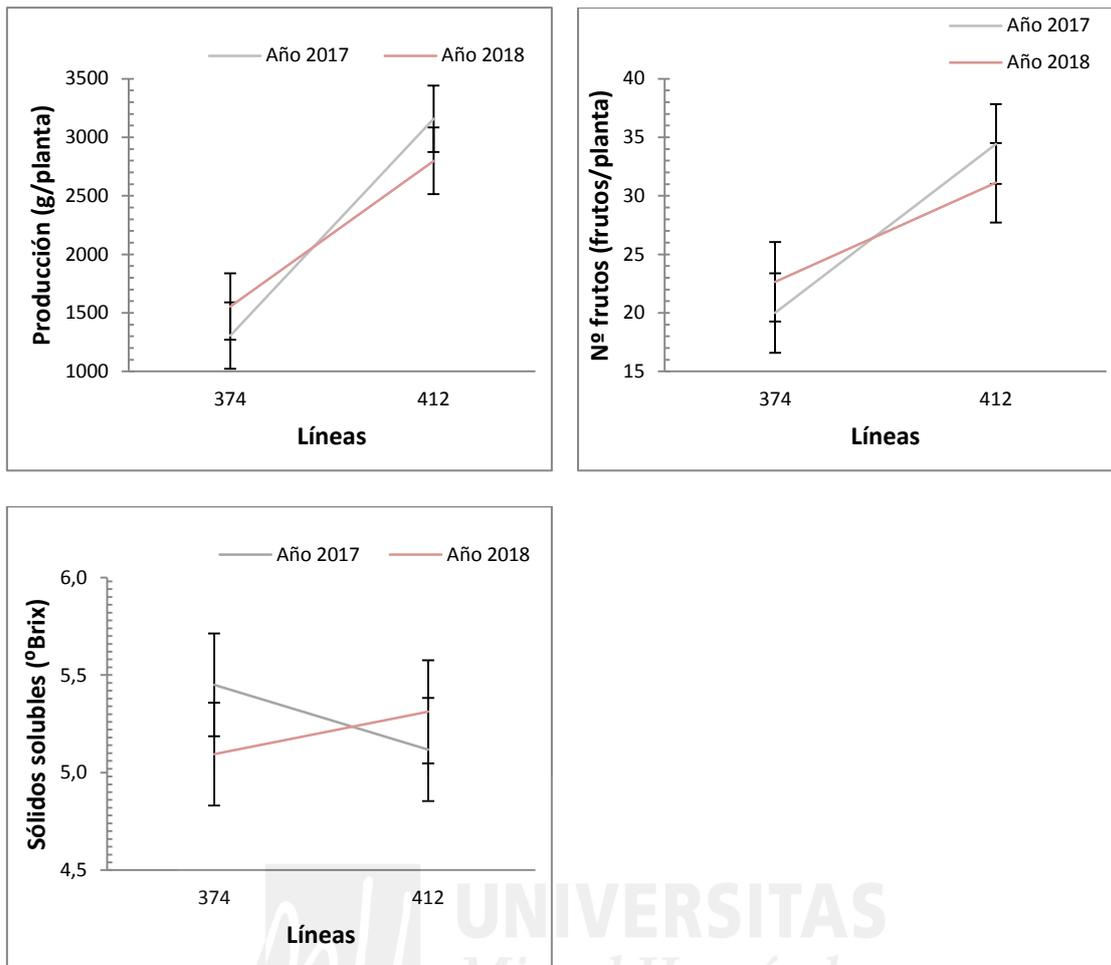


Figura 4.2. Gráficos de interacción de los caracteres producción, número de frutos y sólidos solubles para las líneas 412 y 442.

4.3.3. Discusión.

Las gráficas de interacción, respecto a la producción y número de frutos, muestran que existen diferencias significativas entre las líneas para los dos años, siendo mayor la producción y el número de frutos en la línea 412, la cual es la línea resistente. Por tanto, la carga de ligamiento asociada al alelo *Tm-2^a* que confiere resistencia a ToMV parece que mejora los valores de los caracteres productivos, pero es probable que se deba a la presencia de ToMV en las primeras etapas de cultivo en algunas plantas. Este resultado es similar al obtenido por Rubio *et al.* (2016), donde estudiando una colección de tomate Muchamiel y De la pera con genes de resistencia a ToMV, TYLCV y TSWV, obtuvo un aumento entre el 0 y el 31% en las líneas con resistencia a ToMV con respecto a las sensibles al mismo virus. De forma análoga a lo sucedido los ensayos, el aumento entre el 0 y el 31% también se deba a la presencia de ToMV.

Para el contenido de sólidos solubles, no se han encontrado diferencias significativas entre las líneas en ninguno de los dos años, lo que sugiere que la carga de ligamiento no es

determinante en este carácter de calidad. En el programa de mejora de la EPSO-UMH se han obtenido ligeras variaciones en el contenido de SS que oscilan entre el -8,8 y 2,4% (Rubio *et al.*, 2016).

Tanto para producción, como para número de frutos y sólidos solubles, en ninguna de las líneas existen diferencias significativas en los dos años.

El test de Bonferroni, para el carácter peso medio, muestra diferencias significativas entre las líneas, logrando el valor mayor la línea 412, la cual es la resistente, posiblemente debido a la presencia de ToMV como se ha expuesto en los párrafos anteriores. Para el carácter peso medio no se encuentran diferencias significativas entre los años.

En el caso de la acidez no se presentan diferencias significativas entre las líneas, por lo que dicha carga de ligamiento en este carácter de calidad no es determinante. En el caso de los sólidos solubles las diferencias son significativas entre los años, donde el valor mayor es en el año 2018. Estas diferencias pueden ser originadas por las diferentes condiciones de cultivo que pueden establecerse de un año a otro.

4.4. Líneas 412 y 442.

Estas líneas son iguales para el cromosoma seis, con una región genómica de 35 MB de *S. chilense* que contiene el alelo *Ty-1*, el cual confiere resistencia a TYLCV. Para el cromosoma nueve las líneas difieren, la línea 412 es portadora del alelo de resistencia a ToMV con una carga de ligamiento entre 40 y 50 MB de *S. peruvianum*, pero la línea 442 aun siendo portadora también del alelo de resistencia a ToMV, la carga de ligamiento del genotipo de *S. peruvianum* oscila entre 50 y 60 MB. En este caso, con el efecto de la recombinación en el cromosoma nueve, se ha conseguido disminuir parte de la carga de ligamiento si perder el alelo de resistencia a ToMV. Por tanto, con el análisis de estas dos líneas se estudia cual es el efecto de la pérdida de carga de ligamiento durante el proceso de recombinación, teniendo en cuenta que la eliminación de genoma silvestre ha sido mucho menor que la obtenida en el cromosoma 6 para la línea 215.

4.4.1. Prueba de bondad de ajuste.

Las pruebas de normalidad para todas las variables dependientes estudiadas, realizadas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov, indican que los datos no presentan una distribución normal en el año 2017 respecto a la línea 412 para número de frutos y 442 para peso medio. Para el año 2018 donde la normalidad no se presenta es en las líneas 412 y 442 para sólidos soluble. La homogeneidad de varianzas resuelta mediante el test mejorado de Levene, no es homogénea en los años 2017 y 2018 para sólidos solubles.

Tabla 4.7. Prueba de bondad de ajuste para las líneas 412 y 442.

Caracteres de producción							
Año	Línea	Producción		Peso medio		Número de frutos	
		<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>
2017	412	0,200	0,069	0,200	0,292	0,028	0,081
	442	0,200		0,022		0,200	
2018	412	0,200	0,349	0,200	0,372	0,200	0,43
	442	0,200		0,135		0,200	

Caracteres de calidad					
Año	Línea	Sólidos solubles		Acidez	
		<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Levene</i>
2017	412	0,200	0,021	0,200	0,276
	442	0,200		0,181	
2018	412	0,022	0,044	0,200	0,125
	442	0,000		0,090	

4.4.2. Resultados modelo lineal general de medidas repetidas (GML_{rep}).

La tabla 4.8 resume los resultados obtenidos en el análisis estadístico y el nivel de significación para cada uno de ellos, junto con las comparaciones por pares realizadas para la separación de medias mediante el test de Bonferroni. Seguidamente, se exponen las gráficas de interacción para la interpretación de la separación de medias en los casos donde la interacción se muestra significativa.

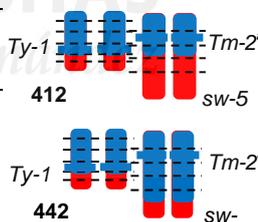
Tabla 4.8. Resultados del análisis GMLrep y del test de Bonferroni para las líneas 412 y 442.

<i>Análisis estadístico. Significación (p-valor)</i>			
Caracteres de producción			
	Producción	Peso medio	Número de frutos
Línea	0,650 n.s	0,102 n.s	0,276 n.s
Año	0,000 ***	0,514 n.s	0,000 ***
Año x línea	0,004 **	0,672 n.s	0,013 *

Caracteres de calidad		
	Sólidos solubles	Acidez
Línea	0,429 n.s	0,000 ***
Año	0,194 n.s	0,000 ***
Año x línea	0,322 n.s	0,193 n.s

<i>Comparaciones por pares Bonferroni. Significación (p-valor)</i>			
Caracteres de producción			
	Producción	Peso medio	Número de frutos
Línea 412		91,4 A	
Línea 442	G. interacción	95,6 A	G. interacción
Año 2017		94,6 A	
Año 2018		92,4 A	

Caracteres de calidad		
	Sólidos solubles	Acidez
Línea 412	5,2 A	0,312 A
Línea 442	5,7 A	0,339 B
Año 2017	5,0 A	0,293 A
Año 2018	5,9 A	0,357 B



A continuación se exponen los gráficos de interacción para la producción y el contenido de sólidos solubles, caracteres cuya interacción resulta significativa.

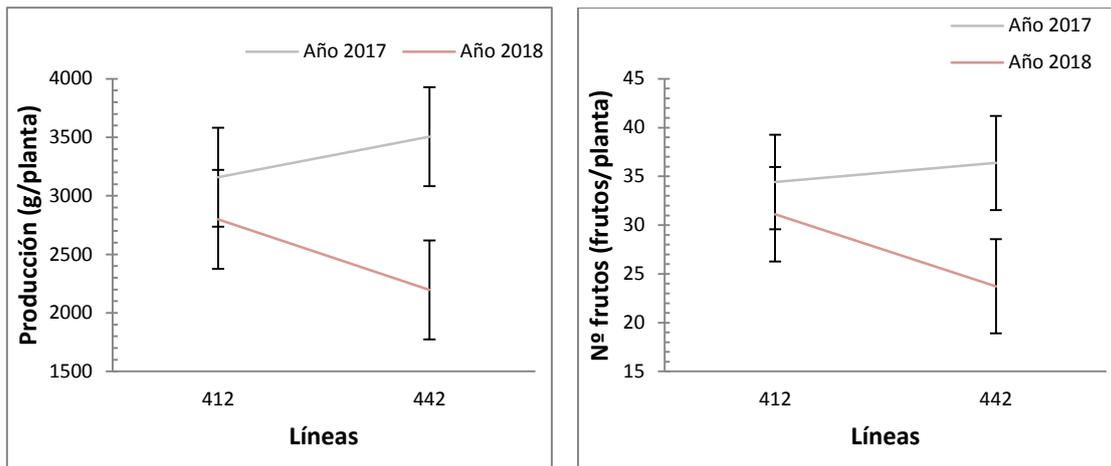


Figura 4.3. Gráficos de interacción de los caracteres producción y sólidos solubles para las líneas 412 y 442.

4.4.3. Discusión.

Las gráficas de interacción, respecto a la producción y número de frutos, muestran que no existen diferencias significativas entre las líneas para los dos años. Por tanto, la pérdida de carga de ligamiento asociada al alelo *Tm-2^a* que confiere resistencia a ToMV en el cromosoma 9, no es determinante para estos caracteres productivos. Comparando la línea 412 con la 215, en la primera se reducen aproximadamente entre 10 y 15 MB (se espera realizar un genotipado masivo para conocer con exactitud las MB de los fragmentos) frente a las 33 MB reducidas en la segunda, por lo que en el caso de la línea 215 la pérdida de carga de ligamiento si es determinante. Tanto para producción total como para número de frutos, en la línea 412 no existen diferencias significativas en los dos años, al contrario de lo que ocurre en la línea 442 con un mayor valor para el año 2017. Estas diferencias pueden ser originadas por las diferentes condiciones de cultivo que pueden establecerse de un año a otro.

Los test de bonferroni, para los caracteres peso medio y sólidos solubles no se presentan diferencias significativas entre las líneas ni entre los años, por lo que la disminución de carga de ligamiento dada en el proceso de recombinación y las condiciones de cultivo no han tenido influencia sobre estos caracteres. Para la variable acidez, se encuentran diferencias significativas entre las líneas y entre los años, siendo el valor mayor el obtenido, en la línea 442 y en el año 2018. Por tanto, la carga de ligamiento asociada al alelo *Tm-2* que confiere resistencia a ToMV es determinante para este carácter junto con las posibles diferencias que se pueden establecer de un año a otro.

5. CONCLUSIONES.

La carga de ligamiento asociada al alelo de resistencia a TYLCV es determinante para la mayoría de los caracteres estudiados. Tanto la línea sensible 94, por no contener carga de ligamiento, como la línea 215, que han perdido gran parte de la carga de ligamiento en el proceso de recombinación, presentan un mejor comportamiento en caracteres productivos, producción, peso medio y número de frutos. En el caso de la línea sensible, este hecho puede ser debido a la no presencia de TYLCV durante los ensayos.

La carga de ligamiento asociada al alelo de resistencia a ToMV no es determinante para la mayoría de los caracteres estudiados. Tanto la línea sensible 374, la cual no contiene carga de ligamiento, como la línea 412, que ha perdido menor parte de la carga de ligamiento en el proceso de recombinación, presentan un comportamiento similar. La línea resistente 412 frente a la línea sensible, en algunos caracteres sí que muestra diferencias, a favor de la primera, pero este hecho puede ser debido a la presencia de ToMV durante los ensayos.



6. BIBLIOGRAFÍA.

- Rodríguez, R. 1984. El cultivo moderno del tomate. Ediciones Mundi-Prensa. 206 pp.
- Anderlini, R. 1983. El cultivo del tomate. Guías de agricultura y ganadería. Ediciones Ceac. 108 pp.
- Caramé, E. 2017. El galeón de Manila. Hombres de hierro en barcos de madera. Revista digital de la Real Academia de Cultura Valenciana. Segunda época –número 2. 12 pp.
- Esquinas-Alcázar, J. y Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate. Ediciones Mundi-Prensa. 793 pp.
- Peralta. 2008. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sections *Lycopersicoides*, *Juglandifolia*, *Lycopersicon*; *Solanaceae*). *Syst Bot Monogr* 84:1-186.
- Hutton, S.F., and Scott, J.W. 2017. Fla. 7907C: A Fla. 7907 Near-isogenic tomato inbred line containing the begomovirus resistance gene, Ty-1. *HortScience* 52(4):658–660.
- Nuez, F. y Ruiz, J.J. 1999. La biodiversidad agrícola valenciana: estrategias para su conservación y utilización. Servicio de publicaciones de la Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Rubio, F., A. Alonso, S. García-Martínez, J.J. Ruiz. 2016. Introgression of virus-resistance genes into traditional tomato varieties (*Solanum lycopersicum* L.): effects on yield and quality. *Scientia Horticulturae* 198:183-190.
- Knapp, S.K.; Peralta, I.E.; Spooner, D.M. 2004. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: *Solanaceae*) from Northern Peru. *Systematic Botany* 30 (2):424-434.
- Hunziker, A.T. 1979. South American *Solanaceae*: a synoptic survey. *Linn. Soc. Symp. Series* (7):49-85.
- FAO/FAOSTAT 2019. Bases de datos estadísticos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en la web www.fao.org/faostat/es/
- García, FS. 1999. El tomate. Estudio de la planta y su producción comercial. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- Vañó, E. 2018. Evaluación de líneas de mejora de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) De la pera y Muchamiel con distintas resistencias genéticas a virosis. Trabajo fin de máster. Universidad Miguel Hernández.
- Guzman, G.; González De Molina, M.; Sevilla, E. 2000. Introducción a la agroecología como desarrollo rural sostenible. Ed. Mundi-prensa, Madrid.

García-García, P. 2004. Herramientas biotecnológicas y uso de recursos fitogenéticos. En: Resistencia genética a patógenos vegetales. Nuez, F.; Carrillo, J.M. y Pérez de la Vega, M. (Eds). Editorial de la UPV.

Cebolla, J; Nuez, F. 2005. Mejora genética de variedades tradicionales de tomate: un paso hacia la recuperación de su cultivo. Actas Portuguesas de Horticultura 4:62-68.

García-Martínez, S. 2006. Mejora genética de variedades tradicionales de tomate del sureste español. Tesis doctoral. Universidad Miguel Hernández.

Amurrio, J.M.; de Ron, A.M.; Escribano, M.R. 1993. Evaluation of *Pisum sativum* landraces from the northwest of the Iberian Peninsula and their breeding value. Euphytica 66:1-10.

Hawtin, G.C.; Iwnaga, M.; Hodgkin, T. 1996. Genetic resources in breeding for adaptation. Euphytica 92: 255-266.

Ceccon, E. 2008. La revolución verde tragedia en dos actos. Ciencias núm. 91:20-29.

Hajjar, R.; Hodgkin, T. 2007. The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. Euphytica 156:1-13.

Frankel, O.H. 1958. Plant breeding. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science 24:112.

Almekinders, C.J.M.; Louwaars, N.P.; de Bruijn, G.H. 1994. Local seed systems and their importance for an improvement seed supply in developing countries. Euphytica 78: 207-216.