

ESTUDIOS UNIVERSITARIOS

REVISTA CIENTIFICA

VOLUMEN 8, ABRIL 2008



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

Loja - Ecuador

Los servidores de la Universidad Nacional de Loja nos comprometemos a cultivar en nuestros actos los siguientes valores y actitudes:

Honestidad y transparencia

Responsabilidad, mística, eficiencia

Respeto

Equidad

Tolerancia

Solidaridad

Lealtad y compromiso con la Institución

Creatividad, innovación, excelencia

Participación

(Cuarto Plan Quinquenal de Desarrollo, 2003-2008, p. 55)

ISSN: 1390-4167



Estudios Universitarios, Revista Científica, Volumen 8.
Impresa en la Editorial Universitaria de la Universidad Nacional de Loja
(calles Bernardo Valdivieso y Rocafuerte, esquina) en abril de 2008.
Tiraje: 1.100 ejemplares.
Teléfono: 07- 2573914. Página web: www.unl.edu.ec
e-mail: diredif@unl.edu.ec; ocf@unl.edu.ec
LOJA - ECUADOR

ESTUDIOS UNIVERSITARIOS
REVISTA CIENTÍFICA

VOLUMEN 8, ABRIL 2008



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

LOJA-ECUADOR

La Comisión Editorial de la Universidad Nacional de Loja, considerará para su publicación en Estudios Universitarios, Revista Científica, artículos originales de investigación, comunicaciones técnicas, revisiones de literatura sobre todas las ciencias y otros, escritos en castellano u otros idiomas, redactados con exactitud, brevedad y claridad, guardando la estructura del artículo científico, y que no hayan sido publicados en otros medios impresos de difusión. Para artículos traducidos al español, esta norma se aplica a la traducción.

La reproducción, traducción, ubicación en la red, utilización de resultados de los trabajos publicados en Estudios Universitarios por terceros, se ajustará a las normas de la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador (Ley 83 - Registro Oficial 320, 19.05.1998) y su Reglamento (Decreto Ejecutivo 508 - RO/120, 01.02.1999).

Presidente de la Comisión Editorial:

Lic. Jaime Wilson Valarezo Carrión, Mg. Sc.
Vicerrector de la Universidad Nacional de Loja.

EDITOR DEL VOLUMEN Nº 8:

Dr. Noé Bravo Vivar,
Profesor del Área de la Educación,
el Arte y la Comunicación.

© Estudios Universitarios, Revista Científica.
Universidad Nacional de Loja
Ciudad Universitaria "Guillermo Falconi Espinosa"
La Argelia.
www.unl.edu.ec
E. mail: vrector@unl.edu.ec, oci@unl.edu.ec

Teléfono: 07-2547252
Fax: 07-2546075

Se podrá reproducir parcial o totalmente los artículos de la Revista citando la fuente.
Su distribución se ajustará a las disposiciones aprobadas para el efecto por la
Comisión Editorial.

ISSN: 1390-4167

Impreso en Ecuador – Printed in Ecuador – Imprimé en Equateur

CDU

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
2003 - 2008**

RECTOR: Dr. Max González Merizalde, Mg. Sc.
VICERRECTOR: Lic. Jaime Wilson Valarezo Carrión, Mg. Sc.

DIRECTORES DE LAS ÁREAS ACADÉMICO-ADMINISTRATIVAS:

Dr. José Riofrío Mora
JURÍDICA, SOCIAL Y ADMINISTRATIVA

Ing. Félix Hernández Cueva, Mg. Sc.
AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

Dr. Héctor Silva Vilema, Mg. Sc.
EDUCACIÓN, ARTE Y COMUNICACIÓN

Dr. Víctor Hugo Jiménez, Mg. Sc.
SALUD HUMANA

Ing. Milton León Tapia, Mg. Sc.
ENERGÍA, INDUSTRIAS Y RECURSOS NATURALES NO RENOVABLES

DIRECTOR EDITORIAL UNIVERSITARIA
Lic. Víctor Vicente Regalado Valarezo

Contenido

CIENCIAS DE LA SALUD

PÁG.

Reanimación neonatal: Capacidad resolutive de los servicios de Neonatología y Centro Obstétrico, Hospital Provincial General Isidro Ayora, Loja 2004. 1

Dr. Jorge A. Álvarez Toledo, Docente Área de la Salud Humana.

Doctora Nuvia Ludeña Misquero

Doctor Diego Álvarez Sempértugi

Desplazamiento epifisario capital del fémur. A propósito de un caso clínico (Tesis de grado). 19

Dra. María de los Ángeles Cevallos

Dr. Leonardo Cartuche.

CIENCIAS FORESTALES

Especies arbóreas que contribuyen a sostener las vertientes de agua en el cantón Paltas, provincia de Loja. 41

Edmigio Valdivieso C.

Franklín Chamba T.

Mejoramiento de la propagación de especies forestales nativas del bosque montano en el Sur del Ecuador. 57

Dr. Nikolay Aguirre Mendoza

Sven Günter

Bernd Stimm

GESTIÓN DE LA FERTILIDAD DEL SUELO

Alternativas orgánicas para mejorar la fertilidad de los suelos de zonas secas en la provincia de Loja. 67

Francisco Guamán

Magaly Yaguana

Efecto del carbón vegetal en las propiedades físicas y químicas del suelo en el cultivo de tomate de mesa (<i>Solanum lycopersicum</i>) bajo invernadero.	PÁG. 85
Ing. Miguel Villamagua	
Ing. Ermel Loaiza	
Egdo. Pablo Naula	

ENERGÍAS

El modelo eléctrico ecuatoriano. Nuevos paradigmas.....	101
Ing. Jorge Patricio Muñoz	
Cocina solar de reflectores interiores.	127
Ing. Thuesman Montaña	

TECNOLOGÍAS DE LA CONSTRUCCIÓN

Algunas soluciones técnicas, utilizando materiales tradicionales en los acabados de ambientes de vivienda tradicional en el barrio Punzara de la ciudad de Loja.	147
Lic. Carlos Andrade Díaz	

GEOLOGÍA

Los deslizamientos en el sistema vial del cantón Loja.....	163
Ing. Jorge Michael Valárezo, Docente, Coordinador de la Carrera de Geología Ambiental y Ordenamiento Territorial	

PEDAGOGÍA APLICADA

Obtención del ácido alfa amino pentanodioico para facilitar los procesos de aprendizaje.	169
Ing. José Ochoa Alfaro	

GENÉTICA

Búsqueda de marcadores moleculares en Naranjilla (<i>Solanum quitoense</i> Mill), para la resistencia al Nematodo (<i>Meloidogyne incognita</i>) y <i>Fusarium oxysporum</i>	179
Morales, Rafael	
Espinosa, Georgina	
Morales, Natalia	
Troya, Henry	
López, Patricio	

	PAG.
Estudio de la variabilidad genética de especies nativas de la Amazonía usando marcadores moleculares AFLPSs (Resumen de investigación UNL-CONESUP).	197
Rafael Morales Alexandra Narváez Natalia Morales Patricio Castro	
RESÚMENES DE TRABAJOS REALIZADOS POR ESTUDIANTES DE LA UNL BENEFICIARIOS DEL PROGRAMA DE INTERCAMBIO Y COOPERACIÓN AMAZÓNICA DE INICIATIVA AMAZÓNICA Y UNAMAZ¹	221
Monitoreo y evaluación de los sistemas agroforestales del Bosque Alexander von Humboldt	237
Ángel Rolando Robles Carrión.	
Uso de la densidad del suelo como indicador en la evaluación ponderada de impactos ambientales en propiedades rurales en la Amazonía.	241
Gabriele Maricell Rojas Morán	
3. Avaliação da performance ambiental em reservas extractivistas no Estado de Acre, Amazonía, Brasil.	247
Claudio Roberto Sosoranga Uchuari	

1 Tomados de: Intercambios estudiantiles en la Amazonía. Resultados y experiencias de los dos primeros años del Programa de Intercambio y Colaboración Amazónica de la Iniciativa Amazónica y la UNAMAZ, Michael Arnegger, Roberto Porro, Sandra Velarde, Eugenia Isnardi, Alan Neves. Primera edición, Primera impresión (2007), 500 ejemplares, pp. 49, 65, 77.

EDITORIAL

La gestión de las autoridades responsables de la elaboración y ejecución del “IV Plan Quinquenal de Desarrollo 2003-2008 de la Universidad Nacional de Loja” (IVPQD) llega a su término. Nuestra comunidad universitaria se apresta a elegir a sus conductores para el período 2008-2013. Previamente, durante el año 2007, se ha llevado a cabo el proceso de autoevaluación institucional, orientado a obtener la evaluación externa y la acreditación y que sirve también, obviamente, para examinar el desempeño de la Universidad en el cumplimiento de sus funciones específicas durante el último período.

Dada la naturaleza de esta publicación, centraremos nuestra atención en el desempeño de la Universidad en el campo de la investigación. La Visión al año 2013 del IV PQD dice que: “Los conocimientos que se generan en la UNL son el producto de proyectos, organizados en programas y líneas de investigación, contruidos y ejecutados con la participación de las organizaciones de desarrollo y la sociedad civil, en los niveles local, provincial, regional y nacional” (p. 54). Y que: “Los proyectos de investigación que se ejecutan en la UNL tienen en cuenta las dimensiones ética, cultural, social, económica y ambiental, como referentes del desarrollo humano sustentable.” (Ibid.). En cuanto a la misión, el documento en mención señala: “Sistematizar los avances del conocimiento científico-técnico y realizar investi-

gación científico-técnica articulada a la realidad regional y nacional, difundir sus resultados e incorporarlos a los procesos de formación y desarrollo humano.” (Ibid.)

Estas Visión y Misión se concretan en el objetivo general: “Generar y aplicar nuevos conocimientos científicos y tecnológicos, y promover los conocimientos ancestrales que den respuestas efectivas a las complejas problemáticas del entorno regional” (p. 57); y, en las líneas estratégicas de acción para la Función Investigación: “Formulación y ejecución de proyectos de investigación articulados a las líneas de investigación-desarrollo, fortalecimiento de la capacidad de investigación de los docentes, desarrollo de mecanismos de gestión para la investigación.” (Ibid.)

En cumplimiento de este objetivo y estrategias se ejecutan actualmente 50 proyectos de investigación (3 desde 1997, 47 desde el 2004)), con el financiamiento del CONESUP (6), de FUNDA-CYT (4), de los fondos CEREPS (12), de la Universidad Nacional de Loja (18), cooperación italiana -COSV- (2); y, otras fuentes (8).

De estos proyectos, 3 pertenecen al Área Educativa, 2 al Área de la Salud Humana, 1 a las Áreas de la Salud Humana y Agropecuaria (en cooperación con la Università degli Studi di Parma-Italia), 1 al Área Jurídica, Social y Administrativa, 43 al Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables.

Algunos de estos proyectos se ejecutan en convenio con otras instituciones: 8 universidades (3 alemanas -Mainz, Bayreuth, Stuttgart-, 2 españolas -Santiago de Compostela y Politécnica de Valencia-, 1 boliviana -Universidad Mayor de San Simón-Bolivia, en asocio con la UNL y la Politécnica de Valencia-, 2 ecuatorianas -Técnica de Quevedo, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, ESPOCH-, 1 italiana -Università degli Studi di Parma); 1 con la UNESCO; 2 con el Comité de Coordinación de

las Organizaciones para el Servicio Voluntario, COSV; 6 con el CONESUP; 4 con FUNDACYT (en 2 de ellos entra el MAG, en 1 el Municipio de Loja, en 1 PREDESUR).¹

Es evidente el predominio de los proyectos de investigación que se ejecutan en el Área Agropecuaria². Buscando alguna explicación, se podría argüir que ésta es, luego de la Jurídica, el Área más antigua de la UNL (fue fundada como Facultad de Ciencias, en 1944). No obstante, tal vez sería más acertado decir que, el de las ciencias agropecuarias, es un dominio de enorme importancia, no solamente debido a su íntima relación con la producción de alimentos para la humanidad sino, sobre todo en la actualidad, debido a los esfuerzos que científicos, gobiernos y otras instituciones realizan para tratar de revertir los daños que la irracional explotación de sus recursos ha infringido a la naturaleza.

También es cierto que, a partir del último tercio del siglo 20, gobernantes, teóricos y técnicos, echaron la culpa de los fracasos en el desarrollo económico del país al “predominio” en el currículum de los establecimientos educativos del país, de las así llamadas “materias/carreras humanísticas”. La respuesta de los organismos responsables de la educación y la investigación científica fue la de volcar el apoyo a la educación técnica y a la investigación en ciencias naturales. Claro que ello no explica tampoco el predominio, dentro de las ciencias naturales, de las investigaciones en el campo agropecuario en nuestra Universidad.

Sea de ello lo que fuere, el número de investigaciones en marcha sugiere la existencia de un porcentaje elevado de profesores en

1 Archivos de la Unidad de Desarrollo Universitario -UDU- y de la DCI.

2 Ésta ha sido, por lo demás, la tónica en cuanto a los trabajos que se publican en Estudios Universitarios, desde su aparición, y también de los que se han presentado en los Simposios Nacionales de Proyectos de Investigación desarrollados en el marco de los Encuentros Nacionales de Culturas.

capacidad de realizarlas y, lo que es más importante, de estudiantes que están aprendiendo a investigar al colaborar con sus profesores en esta tarea. Por otra parte, las investigaciones que se llevan adelante en convenio con otras universidades nacionales y extranjeras significan que, en este campo, estamos a tono con las temáticas que se investigan hoy en el mundo y con las metodologías, técnicas y herramientas de tratamiento de las mismas.

Esto no significa, sin embargo, que los temas sobre los que trabajan los investigadores de la UNL estén alejados de la realidad natural y social de la región y el país del que son parte sino más bien que los investigadores de otros países están trabajando con ellos para desentrañarla. Para comprobarlo, basta mencionar algunos títulos de estas investigaciones:

“Estudio de plantas nativas con propiedades medicinales, bioplaguicidas y toxicológicas de la Región Sur del Ecuador”, que la llevan a cabo la Universidad Nacional de Loja (Áreas Agropecuaria, Ing. Tulio Solano; y, de la Salud Humana, Dr. Marco Fernández) y la Università degli Studi di Parma (Italia, mediante el aporte de varios de sus profesores investigadores).

“Gestión concertada para el control de la desertificación y regeneración del bosque seco de los cantones Zapotillo y Macará”, a cargo de la Universidad Nacional de Loja (Área Agropecuaria, Dr. Ignacio Gómez, Ing. José Ma. Valarezo) y la cooperación científica y financiera italiana a través de COSV (Dr. Sandro Pocaterra).

“Integración regional para el manejo ambiental sostenible y el control de la desertificación en Ecuador y Perú”, a cargo de la Universidad Nacional de Loja (Área Agropecuaria, Dr. Ignacio Gómez, Ing. José Ma. Valarezo, Dr. Tedy Maza) por Ecuador; la Asociación para la Investigación y Desarrollo Integral (Ing.

Mary Carmen Talledo) por Perú; y, la Cooperación Científica y Financiera Italiana a través de COSV (Dr. Sandro Pocaterra).

“Investigaciones dendrológicas sobre el clima en los siglos pasados en los alrededores de Loja”, a cargo de la Universidad Nacional de Loja (Área Agropecuaria, Ing. Héctor Maza) y la Universidad de Stuttgart (Alemania, Prof. Dr. Achim Brauning).

“Influencia del uso de la tierra en las propiedades del suelo y en los flujos de agua y de elementos en los bosques húmedos montañosos del Sur del Ecuador”, a cargo de la Universidad Nacional de Loja (Área Agropecuaria, Ing. Carlos Valarezo M.) y la Universidad de Mainz (Alemania, Prof. Dr. Wolfgang Wilcke).

“Patrones espaciales de los parámetros y funciones de la dinámica del agua, gases y materia en los suelos del bosque montano en los Andes del Sur del Ecuador”, a cargo de la Universidad Nacional de Loja (Área Agropecuaria, Ing. Carlos Valarezo M.) y la Universidad de Bayreuth (Alemania, Prof. Bernd Huwe).

El esfuerzo institucional en el cumplimiento de los objetivos señalados en el IV PQD para la Función Investigación se complementa con la elaboración³ y aprobación⁴ del REGLAMENTO PARA LA INSTITUCIONALIZACIÓN Y DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA.

Como se ve, la finalidad del Reglamento es institucionalizar la investigación científica y tecnológica a nivel de la Administración Central, las Áreas Académico Administrativas, las inter-Áreas y los Centros de Investigación-Desarrollo; así como desarrollarla a través de la elaboración de líneas, programas, proyectos de investigación, tesis de grado y el fortalecimiento de las capacidades

3 Unidad de Desarrollo Universitario, UDU.

4 Honorable Junta Universitaria, 04.03.08.

humanas, logísticas (infraestructura y equipamiento) y administrativas necesarias.

Se crean para ello instancias -Consejo de Gestión, Coordinación General, Consejos Técnicos de Investigación de las AAA- encargadas, además, de promocionar, coordinar y asegurar la calidad y pertinencia social y académica de los resultados de la investigación científica y tecnológica que se realiza en cada uno de dichos niveles.

Para lograr dichas calidad y pertinencia social y académica, estas instancias deberán garantizar que: “Los conocimientos científicos y tecnológicos que se generen en la Universidad Nacional de Loja /sean/ el producto de proyectos de investigación, organizados en programas y líneas de investigación-desarrollo de las AAA, de los Centros de Investigación-Desarrollo o inter-Áreas, coherentes con los módulos de los planes de estudio de las carreras y programas de postgrado, construidos y ejecutados preferentemente con la participación de las organizaciones de desarrollo y la sociedad civil, en los niveles local, provincial, regional y nacional.”⁵

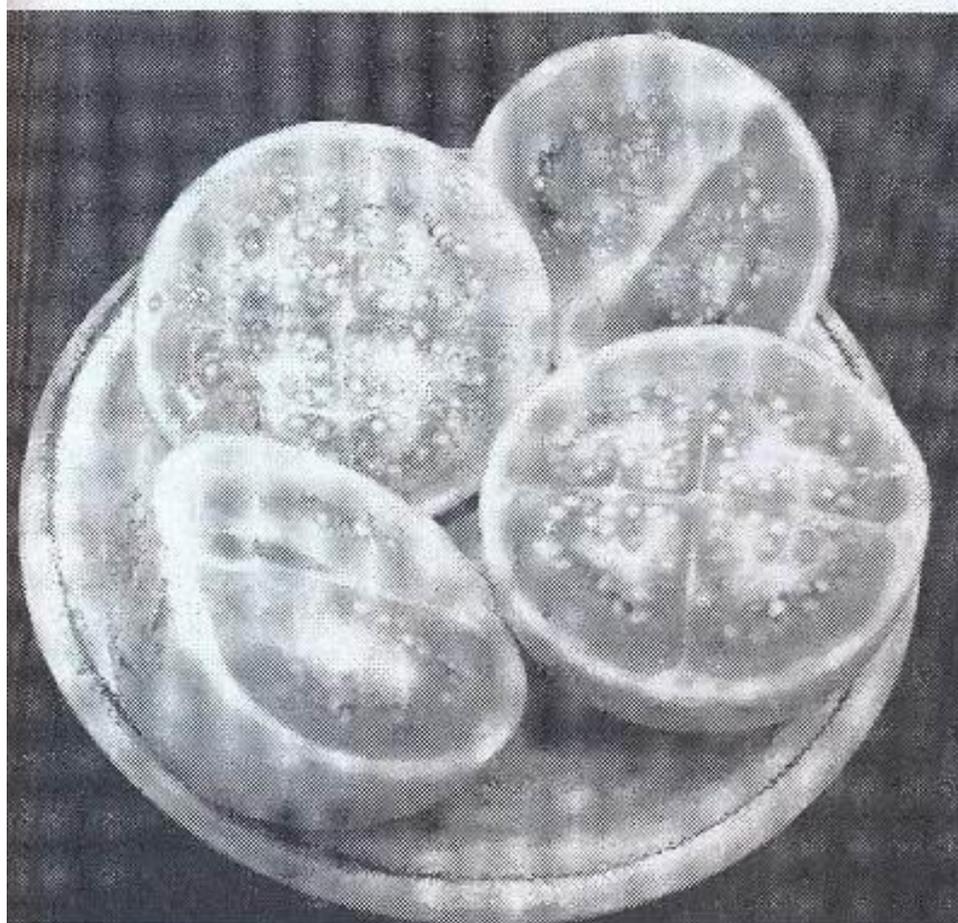
Loja, abril de 2008

**COMISIÓN EDITORIAL
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

5 Reglamento para la institucionalización y desarrollo de la investigación científica y tecnológica en la Universidad Nacional de Loja, Art. 3.

*Búsqueda de marcadores
moleculares en Naranjilla (**Solanum
quitoense Mill**), para la resistencia
al Nematodo (**Meloidogyne
incognita**) y **Fusarium
oxysporum**.*

* Morales, Rafael; ** Espinosa, Georgina; * Morales, Natalia;
* Troya, Henry; * López, Patricio.



Universidad Nacional de Loja-Centro de Biotecnología
Universidad de La Habana (Cuba)

3.1.2. Caracterización con ADN microsatélite

El ADN obtenido fue de buena calidad, aspecto que se puede constatar en la figura 7, los loci de *S. melongena* empleados (134, 140) fueron polimórficos. Está en progreso un análisis similar al hecho con proteínas, en la tabla 6 observamos que la mayor variabilidad se encuentra en los híbridos y no en las autofecundaciones, pero el número de muestras analizado hasta el momento es muy pequeño para el análisis.

Figura 7. Electroforesis sobre gel de agarosa al 1.5 % donde se muestra el DNA obtenido en los grupos de cruzamiento de *Solanum quitoense*.

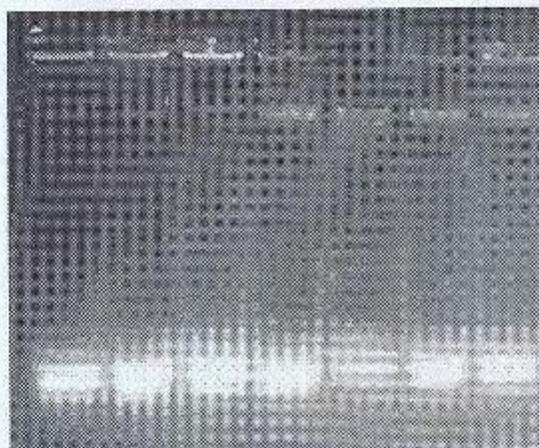


Tabla 6. Variabilidad genética entre los grupos de cruzamiento de *Solanum quitoense*, utilizando la variación de dos loci microsatélites.

Índice	Autofecundaciones N=13	Híbridos N=3	Retrocruces N=2
Media de la diversidad Genética	0.397	0.542	0.25
No. de loci polimórficos	2	2	2
Porcentaje de loci polimórficos	100%	100%	100%

Resumen

Palabras clave: Naranjilla, caracterización molecular, resistencia, cruzamiento.

Solanum quitoense Mill de la familia *Solanaceae*, (naranjilla) en Ecuador es un cultivo de los Andes ecuatorianos. En décadas anteriores su cultivo alcanzó un notable desarrollo en el Ecuador convirtiéndose en la base de la economía de algunos pueblos amazónicos y de algunos andinos; la incidencia de plagas y enfermedades (*Meloidogyne incognita*, *Fusarium oxysporum*) ocasionaron el abandono del cultivo, y su escasa presencia en el medio natural. En primera instancia se generó en el Ecuador un híbrido denominado Puyo (*S. quitoense* x *S. sessiliflorum*) caracterizado por su vigorosidad, alta productividad y semilla estéril, y fruto pequeño; luego surge un nuevo híbrido (Palora) de frutos grandes pero de menor calidad. La tolerancia a estos dos problemas fitosanitarios ha aumentado, la calidad de la fruta ha disminuido; por ello, el Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja ha venido trabajado en la búsqueda de fuentes de resistencia sobre especies del género *Solanum*, encontrando cierta resistencia en *Solanum quitoense* var. septentrionale, genes que se han transferido mediante cruzamientos en *Solanum quitoense* var. quitoense. Posteriormente se encuentra una nueva fuente de resistencia en *Solanum lasiocarpum*, iniciando la transferencia de genes y obteniendo híbridos *Solanum quitoense* var. quitoense X *Solanum quitoense* var. septentrionale. Resultado de estos cruzamientos se tienen hasta la F4, sobre los que se realizan pruebas de resistencia así como la caracterización molecular de los híbridos resultantes. En el presente trabajo los híbridos y sus parentales se han caracterizado con patrones electroforéticos de proteínas totales y peroxidasas, así como con tres loci microsatélites descritos para *Solanum melongena*.

Abstract

Palabras clave: Naranjilla, molecular characterization, resistance, cross breeding.

Solanum quitoense Mill, belongs to *Solanaceae* family, in Ecuador it is known as naranjilla and it is a crop of the Andean Ecuadorian. In previous decades it crop had a remarkable development in Ecuador, becoming the mainstay of the economy of some Amazonian and Andean villages, which was gradually waning by the incidence of pests and diseases (*Meloidogyne incognita*, *Fusarium oxysporum*) which had led to the abandonment of the crop, and now their presence is scarce in the natural environment. To solve the problem, Ecuador has created a hybrid with the name Puyo (*Solanum quitoense* x *S. sessiliflorum*) this hybrid is very strong, highly productive and has sterile seed, but its fruit is very small, Then emergence a new hybrid known as Palora, its has bigger fruits but less quality in the pulp; consequently while tolerance to these two problems phytosanitary has increased, the quality of the fruit has fallen sharply. For that reason the Biotechnology Center of the UNL have been working in the search for genes of resistance in *Solanum quitoense* var. *septentrionale*, and then its made cross breeding with *Solanum quitoense* var. *quitoense*. Finally a new spice with resistance was scouting (*Solanum lasiocarpum*) which has been used in crosses and now we have hybrids *Solanum quitoense* var. *quitoense* x *Solanum quitoense* var. *septentrionale*. Of these crosses were obtained several generations to F4 where they are conducting tests of resistance as well as molecular characterization of the resulting hybrid. In this paper hybrids and their parents have been characterized by electrophoretic patterns (total proteins and peroxidases), as well as three microsatellite loci described for *Solanum melongena*.

Introducción

En la década de los años 70, la naranjilla fue uno de los principales productos de los valles de Zamora y Nangaritza con 690 hectáreas, esto es, el 26 % de la superficie cosechada de las poblaciones de Namírez, Chicaña, La Guintza y Guaysimi. El promedio de producción registrada para los años 75-76 fue de 5,4 ton/ha (1).

En el Ecuador, a partir de los años 50, en algunos sitios del Oriente Ecuatoriano la naranjilla se cultivaba comercialmente, pero estos periodos de altas producciones duró muy poco tiempo, puesto que a mediados de los años 60, se dio el surgimiento de algunas plagas y enfermedades, tales como: nematodos y el hongo *Fusarium*, las cuales provocaron la desaparición de un sinnúmero de plantaciones. Este problema obligó a muchos de los agricultores y productores a utilizar variados métodos y técnicas para el control, los cuales no tuvieron ningún resultado, ya que a medida que transcurría el tiempo estas plagas y enfermedades se hacían más resistentes y agresivas, lo cual obligó a los agricultores a la tala indiscriminada de los bosques en busca de nuevas tierras vírgenes para el establecimiento de este cultivo. Esta tala indiscriminada ha provocado una gran erosión de los suelos y también ha dado lugar a la pérdida de especies silvestres afines a la naranjilla, las cuales podrían ser utilizadas en la mejora genética de este cultivo, en consecuencia, este problema constituye una de las principales limitaciones en el desarrollo agrícola de las provincias amazónicas.

La presencia de este problema obligó a algunas instituciones a realizar estudios concernientes a la mejora genética dando como resultado la obtención del Híbrido INIAP-Palora y de la variedad conocida como Híbrido-Puyo, que si bien son resistentes a plagas y enfermedades no mantienen la calidad organoléptica de *Solanum quitoense*, la cual hoy en día se ha convertido en un

problema. Estos híbridos al momento de cultivarse no presentan mayores problemas fitosanitarios, pero sí en el momento de su aceptación al mercado, principalmente cuando esta fruta es exportada a compradores internacionales, ya que posee características indeseables tales como el tamaño pequeño del fruto, cuarteamiento y la coloración pálida de la pulpa.

Frente a esta problemática, se ha visto la necesidad urgente de obtener una variedad y con el avance de la Biotecnología poder incorporar características deseables como son la resistencia a plagas y enfermedades, especialmente a nematodos y *Fusarium* y que al mismo tiempo permita rescatar la gran calidad de *Solanum quitoense*, en un solo material, para esto se ha venido realizando diferentes tipos de hibridaciones, con lo cual hasta el momento se tiene la F3 y F4, de donde hasta la actualidad se ha realizado nuevos test de resistencia a estos patógenos; caracterización molecular con la ayuda de marcadores moleculares como fueron los microsátélites tanto de la especie emparentada a la naranjilla como de *Solanum tuberosum* (papa); y la especie emparentada a la naranjilla *Solanum melongena*. Con estos avances se pretende a futuro obtener una variedad que posea las características antes mencionadas con lo que se beneficiará a pequeños y grandes agricultores y, además, contribuir a la disminución y uso de nematicidas, aumento de la producción y productividad, y disminución de los costos de producción.

Materiales y Métodos

2.1. Material Biológico

El material vegetal utilizado proviene de las hibridaciones realizadas tanto directas como recíprocas, las cuales son autofecundaciones, retrocruzas e híbridos como se observa en el siguiente gráfico:

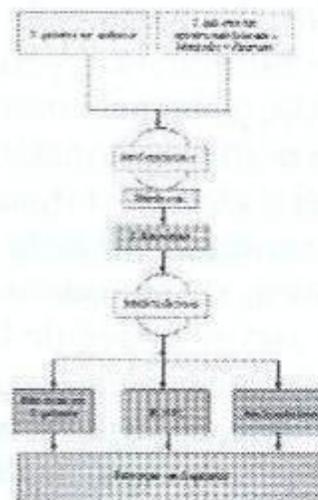


Fig. 1. Hibridaciones de *Solanum quitoense* Lam para transferir la resistencia a *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne*

2.2 Evaluación de la resistencia de *Solanum quitoense*, *Meloidogyne incognita*, *Fusarium oxysporum* y su interacción

Se la realizó a nivel de Invernadero, a tres niveles: Evaluación de *Fusarium oxysporum*; *Meloidogyne incognita* y su interacción (*Meloidogyne incognita*-*Fusarium oxysporum*).

2.3 Análisis Molecular

2.3.1. Isoenzimas

La obtención de extractos de tejidos vegetales tanto para proteínas totales como para peroxidasas, se realizó con 40 mg de hoja fresca finamente cortada y macerada con un tampón de extracción hasta obtener una suspensión homogénea que se llevó a $-20^{\circ}\text{C}/10$ min., se maceró nuevamente con glicerol, se centrifugó y finalmente se cargaron 20 μL de esta suspensión en cada uno de los pozos del gel (vertical) de poliacrilamida al 10%, siguiendo el protocolo de Davis (1964), corridos en buffer Tris-Glicina pH 8. Estos gels fueron teñidos con Simple blue Safe Stain para revelar el patrón de proteínas totales, y para detectar peroxidasas se preparó un

tinción a base de Tris HCl 2M, pH; CaCl₂ 1M; 3 amino-9ethyl-carbazol; formamida y H₂O 23%.

2.3.2. ADN

El DNA fue extraído de hojas deshidratadas de acuerdo al protocolo de la Universidad Politécnica de Valencia (consulta personal), modificado para el presente estudio. De un total de 5 primeros diseñados por Nunome et al., 2003 (2) (Tabla 1), se utilizaron los dos más informativos (134, y 140). Dichos microsatélites, caracterizados para *Solanum melongena*, también amplifican con especies relacionadas como: *S. incanum*, *S. aethiopicum*, *S. anguivi*, *S. gilo*, *S. linnaeanum*, *S. indicum*, *S. macrocarpon*, *S. olivare*, *S. panduriforme*, *S. integrifolium*.

Tabla 1. Secuencia de primers microsatélites utilizados, tamaño del producto de amplificación y número de repeticiones, publicados por Nunome et al., 2003 (2).

Lo-cus	Secuencia primer 5' -- 3'	Tm	Repetición	No. Ale ¹	Long
134	f: agtaagggaaagtgtgacgaagg	65	(gt)2gc(gt)6	2/8	168
	r: cagagtcatcgttatggggagggt				
140	f: ccaaaacaattccagtgactgtgc	65	(ac)4gc(ac)5t(ac)3 atgc (ac)4 at(ac)6(at)5g(ta)13	4/11	268
	r: gaccagaatgccctcaaattaa				

Las reacciones de PCR se realizaron para un volumen total de 15 µl conteniendo: tampón 10X, 25 ng de ADN, 50 mM MgCl₂, 0,1 mM de dNTP, 0,10 µM de cada primer (directo, reverso), y 0,3 unidades de Taq polimerasa, aforado con agua milliQ autoclavada en tubos de 0,2 ml.

La amplificación se realizó en un termociclador Bio Rad según el siguiente programa:

Ciclo 1 (1x)	Paso 1	94 °C / 4 min	Desnaturalización inicial
Ciclo 2 (10x)	Paso 1	94 °C / 45 min	Desnaturalización
	Paso 2	48 °C / 45 min	Hibridación
	Paso 3	72 °C / 1 min	Extensión
Ciclo 3 (30x)	Paso 1	94 °C / 45 min	Desnaturalización
	Paso 2	55 °C / 45 min	Hibridación
	Paso 3	72 °C / 1 min	Extensión
Ciclo 4 (1x)	Paso 1	72 °C / 10 min	Extensión Final

Los productos amplificados se verificaron mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 3%, teñido con Sybr gold 10000 X de Invitrogen. Se cargó 1.5 µl del producto amplificado más 2 µl de buffer de carga 2X (10X Blue Juice loading buffer, Invitrogen); se aplicaron 115 voltios constantes por 1 hora en buffer TBE 1X.

2.3.3. Procesamiento matemático

Los tres grupos de plantas se compararon mediante tablas de contingencia de chi cuadrado (X^2) aleatorizada por el método de Monte Carlo para 1000 repeticiones, utilizando el programa CHIRxC (Zaykin y Pudovkin, (1993).

Las bandas de las proteínas se registraron por inspección visual como presente (1) o ausente (0) para cada muestra. La matriz binaria se utilizó entonces para medir las distancias genéticas utilizando la distancia genética no sesgada (4) dentro del programa POPGENE versión 1.32 (5). Se construyeron dendogramas entre los grupos de cruzamientos y tolerancia. Se estimaron también las medidas de variación genética mediante el programa ya citado.

Resultados y discusión

La mayor parte de los individuos de los tres grupos no presentaron tolerancia a la plaga y al patógeno, en la figura 3 se obser-

va que las autofecundaciones e híbridos constituyen el grupo de mayor tolerancia, aunque el grado de tolerancia a *Fusarium oxysporum* fue el único caso de diferencias significativas.

Otro aspecto que se observa en la figura 3 es que en la interacción se encuentra la menor tolerancia y ningún individuo presentó un grado alto.

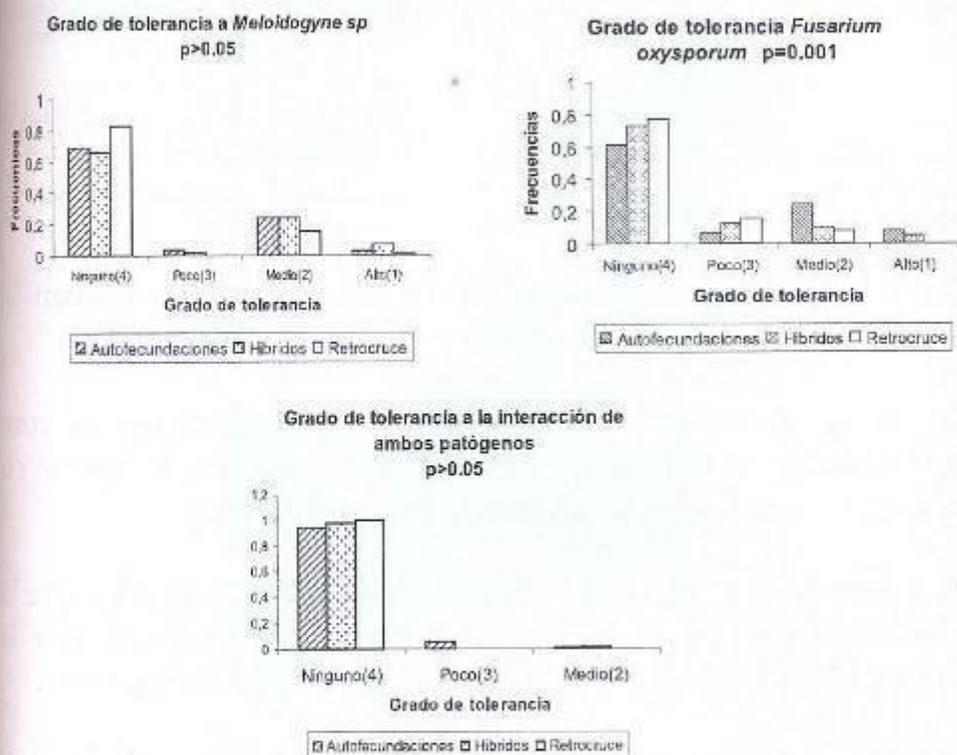


Figura 3. Grado de tolerancia de las autofecundaciones, híbridos y retrocruces de *Solanum quitoense* Lam, después del reto con *Fusarium oxysporum*, *Meloidogyne sp* y la interacción de ambos patógenos.

3.1. Caracterización molecular

3.1.1 Caracterización mediante electroforesis de proteínas totales y peroxidasas

En la caracterización molecular se utilizaron muestras con valores extremos de tolerancia en todos los cruzamientos para el análisis de proteínas y de ADN.

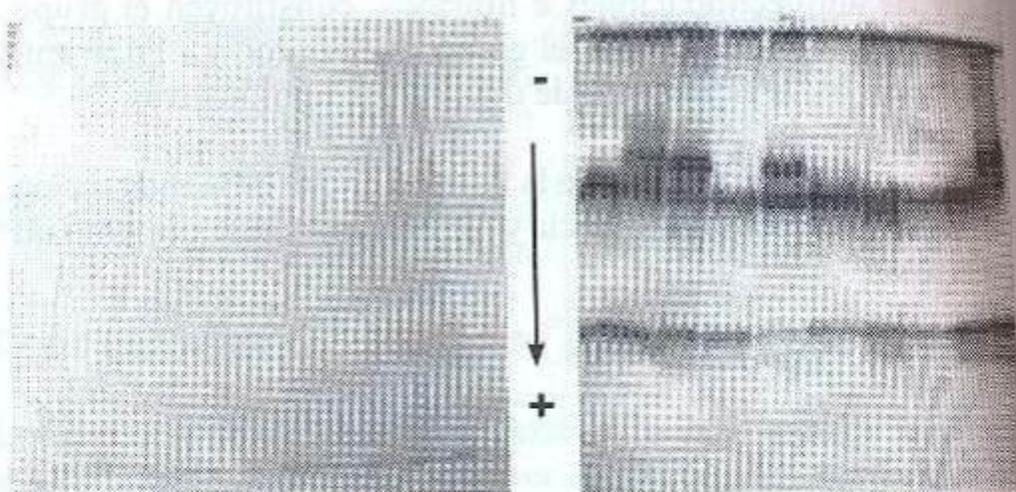


Figura 4. Electroforesis (sobre geles de poliacrilamida al 10%) de proteínas totales (izquierda) y peroxidasa (derecha) en grupos de cruzamiento de *Solanum quitoense*.

Entre los grupos trabajados, las autofecundaciones fueron las más variables y los retrocruces los de menor variación.

Esta variación le puede conferir a las autofecundaciones mayores posibilidades de enfrentar el ataque de patógenos, lo que se corrobora con el grado de tolerancia que presentan.

Es necesario anotar que los híbridos son menos variables que las autofecundaciones, lo que es coherente con el hecho de que las autofecundaciones son materiales de F1 y F2 en segregación.

Estos dos grupos muestran también la más alta identidad genética (Figura 5). El dendograma muestra que las dos variedades de *Solanum quitoense* son idénticas entre sí y se relacionan con los híbridos y autofecundaciones con una identidad mayor de 0,97. La especie *S. lasiocarpum* es la más alejada sobre la base de las bandas de proteínas y peroxidases utilizadas en el análisis.

Tabla 1. Variabilidad genética entre los grupos de cruzamiento de *Solanum quitoense*, utilizando Proteínas totales y peroxidasa como marcadores.

Índice	Autofecundaciones N=21	Híbridos N=10	Retrocruces N=6
Media del No alelos observados (desviación estándar)	1.8750 (0.3360)	1.5312 (0.5070)	1.3438 (0.4826)
Media del No de alelos efectivos (desviación estándar)	1.2547 (0.2841)	1.2311 (0.2955)	1.1422 (0.2243)
Media de la diversidad Genética (desviación estándar)	0.1696 (0.1545)	0.1491 (0.1692)	0.0970 (0.1456)
No. de loci polimórficos	28	17	11
Porcentaje de loci polimórficos	87.5%	53.12 %	34.38 %

Tabla 2. Identidad (sobre la diagonal) y distancia genética (bajo la diagonal) de acuerdo a Nei 1978 (3)(4) entre los grupos de cruzamiento *Solanum quitoense*.

Grupos de cruzamiento	1	2	3	4	5	6
1 Autofecundaciones	****	0.9930	0.9702	0.9742	0.9742	0.7599
2 Híbridos	0.0070	****	0.9803	0.9755	0.9755	0.8015
3 Retrocruces	0.0302	0.0199	****	0.9722	0.9722	0.7869
4 S. q	0.0261	0.0248	0.0282	****	1.0000	0.7500
5 S. qs	0.0261	0.0248	0.0282	0.0000	****	0.7500
6 S. l	0.2745	0.2212	0.2396	0.2877	0.2877	****

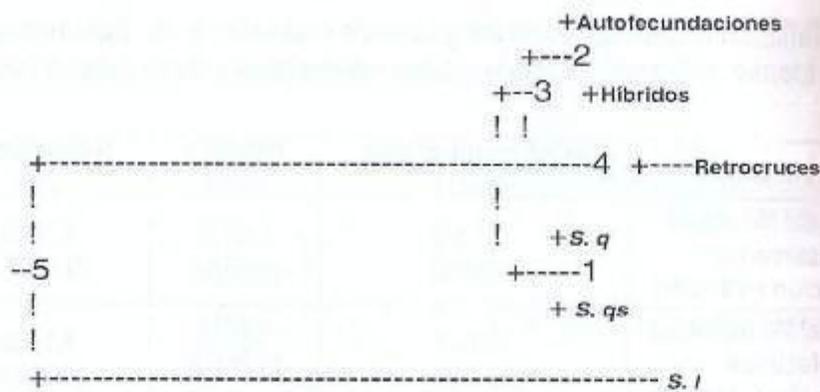


Figura 5. Dendrograma basado en las distancias genéticas de Nei (1978) (4) realizado por el método UPGMA por el programa POPGEN, que relaciona los grupos de cruzamiento de *Solanum quitoense*.

El resultado de la formación de grupos de acuerdo al grado de tolerancia con respecto a *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne sp.*, mostró la presencia de una banda, que está ausente en las plantas sensibles a *Fusarium oxysporum* (banda 16, tabla 3). Se observa en la tabla 4, que tanto para la resistencia a *Fusarium oxysporum* como a *Meloidogyne sp.*, los grupos más tolerantes son también los de mayor variabilidad genética. Siendo mayor la diferencia en variabilidad en las plantas ensayadas para la tolerancia al hongo.

Las relaciones entre los grupos muestran que se asocian de acuerdo al organismo al que son resistentes o sensibles.

Tabla 3. Frecuencia de la presencia de bandas de proteínas totales (Pt) y peroxidasas (Per)

Código	Fusarium Grado 1	Fusarium Grado 3	Nematodo Grado 2	Nematodo Grado 4
Pt1				0.1340
Pt2				0.1340
Pt3				0.1340
Pt4			0.1548	0.1340
Pt5			0.2441	0.1340
Pt6	1.0000	1.0000	0.6220	1.0000
Pt7	0.0801	0.0392		
Pt8	0.5196		0.6220	1.0000
Pt9	1.0000	1.0000	0.3453	0.2929
Pt10	0.3798	0.3206		
Pt11	0.0801	0.0392		
Pt12	0.3798	0.2155		
Pt13	0.1229	0.2155		
Pt14	0.0392	0.0801	0.2441	0.5000
Pt15	0.0801			
Pt16	1.0000		1.0000	1.0000
Pt17		0.1679	0.2441	0.2929
Pt18			0.0742	
Pt19		1.0000	0.0742	0.1340
Pt20	0.2155		0.1548	0.1340
Pt21	0.3206		0.3453	0.2929
Pt22	1.0000		0.6220	1.0000
Per 1			0.0742	0.5000
Per 2			0.0742	0.1340
Per 3	0.7226	0.3206	1.0000	1.0000
Per 4	0.6078	0.7226	0.4655	0.2929
Per 5	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Per 6			0.0742	
Per 7	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Per 8	0.0392		0.1548	0.2929
Per 9	0.1679	0.0801	0.1548	
Total de bandas	21	15	22	22

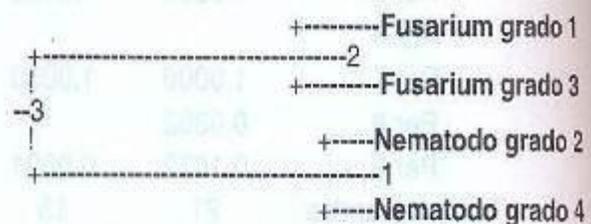
Tabla 4. Variabilidad genética entre los grupos, grados de tolerancia a *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne sp.*

Índice	Fusarium grado 1 N=13	Fusarium grado 3 N=13	Nematodo grado 2 N=7	Nematodo grado 4 N=4
Media del No alelos Observados (desviación estándar)	1.4545 (0.5096)	1.3636 (0.4924)	1.5455 (0.5096)	1.5000 (0.5118)
Media del No de alelos efectivos (desviación estándar)	1.2244 (0.3452)	1.2223 (0.2196)	1.3225 (0.3629)	1.2380 (0.3002)
Media de la diversidad Genética (desviación estándar)	0.1340 (0.1851)	0.0835 (0.1377)	0.1918 (0.2007)	0.1530 (0.1727)
No. de loci polimórficos	10	8	12	11
Porcentaje de loci polimórficos	45.45%	36.36 %	54.55 %	50.00 %

Tabla 5. Identidad (sobre la diagonal) y distancia genética (bajo la diagonal) de acuerdo a Nei (1978) (4) entre los grupos de tolerancia a *Fusarium oxysporum*, *Meloidogyne sp.*

Grupo de tolerancia	1	2	3	4
1 Fusarium grado 1	****	0.9835	0.9443	0.9372
2 Fusarium grado 3	0.0166	****	0.9273	0.9009
3 Nematodo grado 2	0.0573	0.0755	****	0.9904
4 Nematodo grado 4	0.0648	0.1044	0.0097	****

Figura 6. Dendrograma basado en las distancias genéticas de Nei (1978) (4) realizado por el método UPGMA mediante el programa POPGEN, que relaciona los grupos de tolerancia a *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne sp.*



Conclusiones

La variación electroforética de las proteínas totales y peroxidases es mayor en los grupos de plantas con mayor tolerancia al ataque de los patógenos *Fusarium oxysporum* y *Meloidogyne sp.*, lo que puede servir para identificar a las plantas resistentes.

La banda de proteínas totales ausente en las plantas menos tolerantes al *Fusarium oxysporum* pudiera estar relacionada con esta condición, por lo que pudiera constituir un punto de partida para la búsqueda de un marcador molecular que identifique tempranamente la condición de sensibilidad.

La formación de grupos de acuerdo al organismo al que son resistentes o sensibles, podría indicar que los mecanismos de tolerancia o sensibilidad al nematodo y a *Fusarium*, son controlados genéticamente independiente.

Los *loci* microsátélites 134 y 140 de *S. melongena* por su polimorfismo podrían ser utilizados en la caracterización de estos grupos de plantas.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a las Instituciones que nos supieron dar su incondicional apoyo: Universidad Nacional de Loja, Ministerio de Agricultura, y de manera especial a SESA; así también como al CONESUP, que nos financió el proyecto.

Referencias

1. Diagnóstico Socio Económico Zamora-Nangaritza. 1980. Conferencia Internacional de la naranjilla. Ecuador.

-
2. Nunome et al 2003. Identification and characterization of microsatellites in eggplant *Plant Breeding* 122, 256—262
 3. Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci. USA* 70:3321-3323.
 4. Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
 5. Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft window-bases freeware for population genetic analysis. Available: www.ualberta.ca/~fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.