

RESUMEN

En los últimos años la producción de papa en el Uruguay se ha visto muy afectada por la bacteria *Ralstonia solanacearum*, causante de la enfermedad conocida como murchera. Los esfuerzos tendientes al desarrollo de nuevas variedades de papa con características mejoradas, ubican a la especie silvestre *Solanum commersonii* Dun. como uno de los recursos nativos más valiosos a ser usados en mejoramiento. Nuestro país constituye un importante reservorio de diversidad de esta especie silvestre, cuyo potencial ha sido evaluado en forma preliminar, pero que no se ha integrado en forma sistemática a un banco de germoplasma.

Uno de los objetivos centrales de esta tesis consistió en evaluar la diversidad genética de *S. commersonii* mediante la utilización de marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) y SSR (*Simple Sequence Repeats*). Se analizaron 30 accesiones colectadas en distintas regiones del país. Los tres tipos de marcadores demostraron ser herramientas útiles para el estudio de la diversidad genética de la especie *S. commersonii*, generando resultados con elevada reproducibilidad y confiabilidad. El análisis SSR fue el método que reveló un mayor nivel de polimorfismo, mientras que los marcadores AFLP y RAPD presentaron un mayor poder de discriminación entre las accesiones analizadas. Los resultados de similitud genética muestran un patrón de agrupamiento claramente relacionado con el origen geográfico de las accesiones, revelando la existencia de dos grupos bien diferenciados provenientes de la zona norte y sur del Uruguay. También se encontró un tercer grupo minoritario de accesiones que presentan marcadas diferencias respecto al resto de la colección. Estos conocimientos contribuyen a la racionalización en el mantenimiento de la colección de germoplasma de esta especie, así como al establecimiento de criterios para la selección de genotipos durante la planificación de cruzamientos.

Se realizó también el primer relevamiento de cepas de *R. solanacearum* lográndose aislar, identificar, caracterizar y mantener ocho cepas provenientes de las principales zonas de producción papera del Uruguay. Todos los aislamientos pertenecen a la División II, biovar 2-A. No se encontraron diferencias entre los perfiles genéticos de las ocho cepas aisladas.

Mediante ensayos de inoculación en invernadero, se confirmó la resistencia de *S. commersonii* frente a *R. solanacearum*. Los niveles de resistencia no son uniformes en toda la especie, encontrándose distintas categorías de resistencia entre las accesiones analizadas. No se encontró ninguna correlación entre los perfiles genéticos de las accesiones de *S. commersonii* y los niveles de resistencia a *R. solanacearum*. Sin embargo, a partir del análisis detallado de los perfiles genéticos generados, se encontró un marcador RAPD de 800 pb (R6-800) presente únicamente en accesiones con fenotipo resistente. Se confirmó la homología de secuencia de todos los fragmentos y se diseñaron *primers* específicos logrando convertir este marcador anónimo RAPD en un marcador de secuencia caracterizada SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*).

Se optimizó un ensayo destinado a evaluar la presencia de sustancias con actividad antimicrobiana en extractos vegetales. Se detectó así, que varios extractos acuosos preparados a partir de tubérculos de *S. commersonii* presentan actividad antimicrobiana frente a *R. solanacearum*, descartándose la naturaleza proteica del (los) compuesto(s) responsable(s) de esta actividad. Asimismo, se encontró que el contenido de proteínas solubles, los perfiles electroforéticos y los niveles de actividad hemaglutinante de estos extractos constituyen herramientas adicionales para reafirmar la diversidad que caracteriza a esta especie silvestre.

Se confirmó la presencia de una lectina en tubérculos de *S. commersonii* con la misma especificidad que la lectina de tubérculos de *S. tuberosum* pero diferente peso molecular de la subunidad, determinado mediante SDS-PAGE (90 KDa y 65 KDa, respectivamente). Si bien la lectina aislada de *S. tuberosum* mostró interacción con células avirulentas de *R. solanacearum*, este reconocimiento no se observó con la lectina de *S. commersonii*, reforzando las diferencias encontradas entre ambas proteínas. También se determinó que el exopolisacárido aislado a partir de células virulentas de *R. solanacearum* no es reconocido por ninguna de las dos lectinas.

Los resultados generados a partir de este trabajo de tesis sobre el sistema *S. commersonii* – *R. solanacearum* establecen bases sólidas para el máximo aprovechamiento de esta especie silvestre en la introducción de resistencia frente a *R. solanacearum* y validan al sistema como modelo para la búsqueda de marcadores de resistencia.