



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA**

**PREDICCIÓN DE RENDIMIENTO DE HÍBRIDOS
DE JITOMATE CON HUELLAS GENÓMICAS**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

LUCAS HERNÁNDEZ IBÁÑEZ

Chapingo, México, junio de 2012.



**DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**



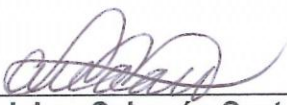
Instituto de Horticultura

PREDICCIÓN DE RENDIMIENTO DE HÍBRIDOS DE JITOMATE CON HUELLAS GENÓMICAS

Tesis realizada por **Lucas Hernández Ibáñez**, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Director:



Dr. Jaime Sahagún Castellanos

Asesor:



Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

Asesora:



Dra. Margarita Gisela Peña Ortega

Chapingo, México, junio de 2012.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Chapingo** y al **Instituto de Horticultura**, por mi formación como Maestro en Ciencias en Horticultura.

Al **Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (Conacyt), por la beca No. 237429 del programa de formación y desarrollo de científicos y tecnólogos, para la realización de mis estudios de maestría.

A mi Comité Asesor integrado por el **Dr. Jaime Sahagún Castellanos**, **Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez** y la **Dra. Margarita Gisela Peña Ortega**, quienes me apoyaron en todas las etapas de la investigación, compartieron sus conocimientos, me orientaron para tomar las mejores decisiones y sobre todo me brindaron su amistad y confianza.

A mis padres **José Florencio Hernández Villalba** y **María Enriqueta Marcelina Ibáñez Padrón**, y hermanos **Enriqueta**, **Leonardo**, **Guadalupe**, **Margarita**, **Alejandra**, **Lidia** y **Florencio**, que siempre me apoyan.

A mi esposa **Rosa Franco Amaro** y mis hijos **José Alejandro**, **Laisha R. Idalid** y **Marco Antonio** por su amor incondicional.

A los compañeros de la maestría, muy especialmente a **Luis Miguel Martínez Rodríguez**. Y a los trabajadores académicos o administrativos, que participaron en alguna etapa de la investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor nació en Zacatlán, Puebla, el 18 de octubre de 1972. Es Ingeniero Agrónomo especialista en Fitotecnia, graduado de la Universidad Autónoma Chapingo en 1995. Su tesis de licenciatura se denominó “Efectos del cloruro de sodio en el crecimiento de callos embriogénicos de trigo (*Triticum aestivum* L.) obtenidos *in vitro*”, aprobada con mención honorífica.

En quince años de experiencia laboral, ha trabajado en la iniciativa privada y el sector público, en actividades como la promoción, distribución y venta de agroquímicos y semillas; construcción de invernaderos; y en la producción de hortalizas en hidroponía e invernadero.

En enero de 2010 ingresó al Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo para realizar estudios de Maestría en Ciencias en Horticultura.

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMEN	1
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	4
Objetivos	4
Hipótesis	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Importancia del jitomate	5
Mejoramiento genético	6
Selección asistida con marcadores moleculares	6
Agrupamiento de genotipos	8
Predicción de rendimiento en cruza simples	10
Covarianza genética entre cruza simples	10
Estimación de varianzas genéticas	11
El mejor predictor lineal insesgado (BLUP) del rendimiento de una cruza simple	14
El coeficiente de correlación	15
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Lugar del experimento	17

Caracterización genotípica	17
a) Extracción de ADN	17
b) Cuantificación de la pureza y calidad del ADN	18
c) PCR Condiciones de amplificación y separación de fragmentos.....	19
d) Análisis de geles.....	20
Caracterización fenotípica de cruza simples de jitomate	20
Predicción de rendimiento de cruza simples de jitomate	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
a) Agrupamiento de genotipos	24
b) Rendimiento de híbridos, varianzas genéticas y coeficientes de coancestría.	27
c) Correlación entre rendimientos observados y predichos	30
CONCLUSIONES	34
LITERATURA CITADA	35
ANEXOS	39

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1. Concentración de macroelementos (meq.L^{-1}) y microelementos (ppm) de la solución nutritiva para el cultivo de jitomate (Cadahia, 2000).	21
CUADRO 2. Iniciadores ISSR utilizados en la caracterización de la divergencia genética de noventa y siete genotipos de jitomate, temperatura de alineamiento empleada (T_a), número total de bandas amplificadas (NTBA), número de bandas polimórficas (NBP) y porcentaje de polimorfismo (PP).....	24
CUADRO 3. Agrupamiento de 92 líneas y 5 genotipos nativos de jitomate, distancia de Jaccard y método de la varianza mínima de Ward.	27
CUADRO 4. Rendimiento de fruto por planta de los híbridos de jitomate entre cinco líneas del grupo heterótico X y ocho líneas del grupo heterótico Y.	28
CUADRO 5. Coeficientes de coancestría entre cinco líneas del grupo heterótico X, calculados mediante marcadores ISSR.....	28
CUADRO 6. Coeficientes de coancestría entre ocho líneas del grupo heterótico Y, calculados mediante marcadores ISSR.....	29
CUADRO 7. 100 y 1000 estimaciones del coeficiente de correlación (r) entre 40- n rendimientos predictores y predichos (con n híbridos predictores) de híbridos de jitomate.	30
CUADRO 8. Promedio de los rendimientos predichos de los híbridos en que participa cada una de las líneas de los grupos heteróticos X (21) y Y (27).	32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Dendrograma de disimilaridad genética entre 97 genotipos de jitomate, distancia de Jaccard y método de la varianza mínima de Ward..... 26

FIGURA 2. Representación gráfica de 1000 coeficientes de correlación entre 40-n rendimientos predichos (estimados con n híbridos predictores) y observados, en híbridos de jitomate. 31

PREDICCIÓN DE RENDIMIENTO DE HÍBRIDOS DE JITOMATE CON HUELLAS GENÓMICAS

PREDICTION OF TOMATO HYBRID PERFORMANCE WITH GENOMIC MARKS

Lucas Hernández Ibáñez¹ y Jaime Sahagún Castellanos²

RESUMEN

En México, el jitomate es la especie hortícola más importante, pero no existe producción de semilla ni variedades propias. El Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo, ha desarrollado 92 líneas avanzadas, que podrían producir 4,186 cruza simples, cantidad imposible e incosteable de probar experimentalmente. De febrero de 2010 a agosto de 2011 se desarrolló una investigación para predecir el rendimiento de híbridos de jitomate con base en la evaluación de los de una muestra. Se caracterizó las 92 líneas con 17 marcadores moleculares ISSR, que generaron 116 bandas (92 % polimórficas). Con el coeficiente de Jaccard y el método de la varianza mínima de Ward, se asignaron los genotipos a cuatro grupos heteróticos. Se eligieron dos grupos (X y Y) para predecir el rendimiento, con 5 y 8 líneas de X y Y, respectivamente, se generaron 40 cruza simples y se evaluó su rendimiento de fruto por planta. Se diseñó un programa en IML de SAS para predecir el rendimiento de cruza no realizadas con el método del mejor predictor lineal e insesgado o BLUP. El método se validó con 100 y 1000 conjuntos de $n=5, 10, 15, 20, 25, 30$ y 35 híbridos predictores tomados al azar y se predijo el rendimiento de las $40-n$ cruza no observadas. Los coeficientes de correlación entre rendimientos observados y predichos fluctuaron entre 0.446 y 0.778. Los resultados sugieren que la predicción del rendimiento de híbridos en jitomate es posible con el BLUP, que relaciona información fenotípica y genotípica.

Palabras clave: *Solanum lycopersicum* L., mejor predictor lineal e insesgado (BLUP), marcadores moleculares, ISSR.

ABSTRACT

In Mexico, tomato is the most important horticultural species, but there is not seed production and national varieties. The Institute of Horticulture, at Chapingo Autonomous University has developed 92 inbreds, which could produce 4,186 single crosses that are impossible and unaffordable to be tested experimentally. Since February 2010 to August 2011 a research was made to predict the performance of tomato hybrids based on the evaluation of a sample. The 92 inbreds were characterized with 17 ISSR molecular primers, which generated 116 bands (92 % polymorphic). With Jaccard's coefficient and Ward's minimum variance method, genotypes were assigned to four heterotic groups. Two groups (X and Y) were chosen to predict hybrid performance using 5 and 8 inbreds from groups X and Y, respectively. Forty single crosses were generated and evaluated for fruit yield per plant. A IML program in SAS was designed to predict the performance of non-produced crosses, using the Best Linear Unbiased Prediction method (BLUP). The validity of the method was tested using 100 and 1000 sets of $n=5, 10, 15, 20, 25, 30$ and 35 predictor hybrids, randomly selected, and the performance of $40-n$ non-produced crosses were predicted. The observed and predicted correlation coefficients fluctuated from 0.446 to 0.778. The obtained results from this study suggest that was able to prediction of fruit yield of tomato hybrids is possible using BLUP, which effectively relate phenotypic and genotypic information.

Index words: *Solanum lycopersicum* L., best linear unbiased prediction (BLUP), molecular markers, ISSR.

¹Tesista, ²Director

INTRODUCCIÓN

En México, el jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la segunda especie hortícola más importante por la superficie sembrada y la primera por el valor de la producción y divisas generadas. El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de la SAGARPA, reporta que del año 2005 al 2010 la superficie cultivada se redujo de 70 a 54 mil hectáreas. La producción alcanzó dos millones trescientas mil toneladas, con rendimiento promedio de 43.7 t ha^{-1} en el 2010. Los sistemas de producción se han mejorado y en la última década se ha desarrollado una superficie cercana a 13 mil hectáreas de agricultura protegida, donde el principal cultivo es el jitomate.

Pieza fundamental del desarrollo tecnológico hortícola es la utilización de variedades mejoradas de alto rendimiento, generalmente materiales híbridos producidos por empresas semilleras de origen holandés, israelí y norteamericano, que tienen cubierto el mercado nacional. Si bien el abasto de semilla ha sido suficiente, y se encuentran disponibles cultivares de diferente hábito de crecimiento, forma, tamaño y color del fruto, resistencia a plagas y enfermedades, larga vida de anaquel y alto contenido de licopeno, por citar algunas características, existe el inconveniente del alto costo de esta semilla y la dependencia hacia dichas empresas extranjeras.

En el país no existe producción de semilla de jitomate ni variedades propias de este cultivo. El Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo, ha establecido un programa de mejoramiento genético de jitomate con el objetivo de generar variedades e híbridos de bajo costo, que atiendan los sistemas de producción en invernaderos con baja capacidad de inversión. Este programa ha generado líneas avanzadas (F_5 y F_6), seleccionadas a partir de poblaciones segregantes de cruzamientos realizados entre híbridos y variedades comerciales de diferentes características. El proceso de selección de líneas puras como progenitores de híbridos de alto rendimiento, usualmente

requiere: 1) identificación de grupos heteróticos, el término grupo heterótico se refiere a "un grupo de genotipos relacionados o no, de la misma o de diferente población, que muestran similar habilidad combinatoria y respuesta heterótica cuando se cruzan con los genotipos de otros grupos de germoplasma genéticamente distintos" (Melchinger y Gumber, 1998), 2) realización de cruzamientos entre líneas de diferentes grupos heteróticos y 3) evaluación de rendimiento y características agronómicas de los híbridos generados. Típicamente, menos de 1 % de las cruzas examinadas de maíz (*Zea mays* L.) llegan a ser híbridos comerciales (Bernardo, 1996). Lo anterior implica la necesidad de evaluar cientos o miles de cruzas simples. Si se considera que el número de líneas elite es grande, el número de cruzas simples se dispara y llega a ser imposible e incosteable probar adecuadamente cada material. Sin embargo, es posible evitar este trabajo mediante la predicción del comportamiento de los híbridos con base en la evaluación de una muestra de ellos (Bernardo, 1995).

Para predecir las cruzas que no son parte de la muestra de híbridos evaluados, se han generado metodologías basadas en marcadores moleculares de ADN, complementadas con ecuaciones de predicción del rendimiento de híbridos mediante la estimación de coeficientes de parentesco a partir de las huellas genómicas de los progenitores empleados.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivos

1. Caracterizar 92 líneas de jitomate, mediante la utilización de marcadores moleculares de ADN tipo ISSR.
2. Generar una ecuación de predicción de rendimiento de híbridos de jitomate generados a partir de líneas puras de grupos heteróticos diferentes, identificados a partir de huellas genómicas.
3. Verificar la eficiencia de la ecuación de predicción de rendimiento obtenida a partir de huellas genéticas, mediante la evaluación experimental de los híbridos predichos.

Hipótesis

1. La utilización de marcadores moleculares de ADN tipo ISSR permitirá identificar líneas puras genéticamente divergentes para ser asignadas a grupos heteróticos, pues estos marcadores son capaces de detectar polimorfismo en especies de variación genética estrecha, como el jitomate.
2. La predicción del rendimiento de cruzas simples de jitomate es posible con el método del mejor predictor lineal e insesgado (BLUP por sus siglas en inglés) que, en este caso, se pretende que relacione información genotípica e información fenotípica, obtenida de ensayos de rendimiento en campo, de las líneas homocigóticas y cruzas simples F_1 .

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del jitomate

El tomate o jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una especie originaria de la región andina. México es considerado el centro más importante de su domesticación, de aquí fue llevado a Europa y posteriormente a Estados Unidos (Valadez, 1989).

En México, la superficie dedicada al cultivo de jitomate en campo abierto tiende a reducirse por diversas razones; sin embargo, el cultivo protegido ha experimentado un crecimiento muy dinámico. La SAGARPA registró 300 y 721 ha de invernaderos en 1980 y 1999 respectivamente, y para el 2008 se alcanzaron 8,569 ha, de ellas 44 % es de invernaderos (de media a alta tecnología), 51 % con malla sombra y 5 % de otras estructuras. Las entidades con mayor superficie de agricultura protegida fueron Sinaloa con 30 %, Baja California con 16 %, el Estado de México con 12 % y Jalisco con 7 %. Organismos como Fideicomisos Instituidos en Relación a la Agricultura del Banco de México (FIRA, 2010) o la Asociación Mexicana de Horticultura Protegida A. C. (AMHPAC), estiman en 13 mil a 15 mil hectáreas la superficie actual de invernaderos en el país, y de ésta sólo la mitad se dedica a la producción intensiva de hortalizas. El 90 % de la superficie de invernaderos y casa sombra dedicada a hortalizas se concentra en la producción de jitomate, 5 % produce chiles y el resto a cultivos como lechugas, pepinos, calabacitas o hierbas finas (FIRA, 2010).

A la par del uso de mejores tecnologías de producción, ha ocurrido la adopción y utilización de semilla híbrida. Sin embargo, esto ha generado una mayor dependencia del extranjero. En México, no existen programas de generación de variedades mejoradas de jitomate. Prácticamente, la totalidad de la semilla híbrida utilizada proviene de empresas trasnacionales.

Mejoramiento genético

El mejoramiento de jitomate es una historia de éxito, que se ilustra por la gran cantidad de cultivares disponibles en la actualidad, que crecen y prosperan en todo el mundo bajo una amplia variedad de condiciones productivas. Además, la especie presenta diversidad en características como tipo de crecimiento (determinado, semideterminado e indeterminado), tipo de fruto (redondo, alargado, cereza), vigor, resistencia a plagas (*Meloidogyne* sp., *Pseudomonas solanacearum*) y enfermedades (*Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*, *Alternaria solani*, *Stemphylium solani*, etc.), calidad de la fruta (contenido de licopeno, concentración de sólidos solubles, acidez), entre otros. El mejoramiento de jitomate ha seguido la metodología clásica de identificar genotipos superiores, realizar cruzamientos y selección de progenie (Nuez-Viñals, 2001; Lindhout, 2005).

Los objetivos actuales de los programas de mejoramiento tanto públicos como privados varían ampliamente, y dependen de la localización, necesidades y recursos disponibles. Deben responder a la necesidad de los agricultores de producir altos rendimientos, calidad de fruto superior y mantener los costos de producción tan bajos como sea posible. Para ello, se deben incorporar en los nuevos cultivares resistencias a los ataques de agentes bióticos y abióticos, y mejorar la calidad del fruto (Lindhout, 2005).

Selección asistida con marcadores moleculares

El avance de la Biotecnología en las últimas décadas ha sido extraordinario, y su impacto en la agricultura se ha enfocado principalmente en la aplicación de algunas de sus técnicas al mejoramiento vegetal. Las empresas productoras de semilla se encuentran en un proceso de reingeniería para apropiarse y explotar las nuevas tecnologías (Eathington *et al.*, 2007).

En el mejoramiento de plantas, la selección apoyada por marcadores genéticos permite identificar plantas de interés desde etapas tempranas de su desarrollo. La identificación se realiza con técnicas para análisis de genomas que permiten detectar fragmentos específicos en el ADN conocidos como huellas genómicas o huellas de ADN. Éstas pueden estar asociadas a un carácter agronómico de interés particular para el fitomejorador, y se conocen en este caso como marcadores genético-moleculares. El desarrollo de marcadores ayuda a eliminar los inconvenientes de la selección basada exclusivamente en el análisis fenotípico, así como la identificación de especies y variedades de una forma más rigurosa y repetible. Además, reducen el tiempo de identificación de genotipos con características asociadas a dichos marcadores genéticos sin necesidad de esperar su madurez y prueba en ambientes diferentes (Valadez-Moctezuma y Kahl, 2005).

La selección asistida con marcadores usa varias técnicas basadas en la reacción de polimerización en cadena (PCR), que utiliza secuencias de oligonucleótidos que inician la síntesis *in vitro* de fragmentos de ADN de longitudes variables, no mayores de 6 kb en promedio. Estas secuencias iniciadoras pueden ser aleatorias, semialeatorias o específicas, y han permitido caracterizar genomas de diferentes organismos, detectar y aislar genes, y diferenciar organismos relacionados genéticamente (Valadez-Moctezuma y Kahl, 2005).

Algunas tecnologías basadas en la PCR son: a) RAPDs (random amplified polymorphic DNA o ADN polimórfico amplificado al azar) que se han empleado en jitomate para tratar de establecer diferencias y similitudes genéticas entre las líneas progenitoras y su híbrido (Sánchez-Abarca *et al.*, 2003), o para estimar el grado de variabilidad genética entre genotipos generados *in vitro* (Mukandama *et al.*, 2004); b) AFLPs (polimorfismos de fragmentos amplificados de diferente longitud), que se han empleado para facilitar la introgresión de genes provenientes de especies silvestres en variedades comerciales de jitomate (Pratta *et al.*, 2001); y c) microsatélites, también conocidos como secuencias

simples, ISSR (inter-simple sequence repeat ó intersecuencias simples repetidas), iniciadores de secuencias cortas (2 a 10 pares de bases). El ISSR-PCR es un método sencillo y rápido que combina las mejores ventajas de los microsatélites, los AFLP y la universalidad del RAPD. Es altamente polimórfico y usado en estudios sobre diversidad genética, filogenia, etiquetado de genes, mapeo genómico y biología evolutiva (Gupta y Varshney, 2000; Pradeep *et al.*, 2002). Especies autógamas como el jitomate se caracterizan por tener una estrecha base genética lo que conlleva una escasa variabilidad. Los microsatélites han sido útiles para caracterizar genéticamente diversos cultivares de *Lycopersicon esculentum* (Bojinov y Danailov, 2009), así como diferenciar entre especies del género *Lycopersicon* (Kochieva *et al.*, 2002; Tikunov *et al.*, 2003).

Agrupamiento de genotipos

Una de las contribuciones más concretas de los marcadores moleculares, son los estudios de divergencia y relación filogenética entre y dentro de especies vegetales de interés agrícola, con aplicaciones en la organización del germoplasma, así como mejoramiento y genética de plantas. Caso concreto, la asignación de genotipos a grupos heteróticos. En estos estudios, se utilizan técnicas multivariadas como el análisis de conglomerados o agrupamientos, para la representación simplificada de los resultados. El preámbulo de dichos análisis es la construcción de una matriz de similitud (o distancia) entre los genotipos evaluados (Duarte *et al.*, 1999).

Las variables registradas de marcadores moleculares dominantes (RAPDs o ISSRs) son cualitativas. En cada posición relativa de una banda se tienen dos opciones, asignar un 1 en caso de presencia y 0 para la ausencia. Lo anterior genera las siguientes posibilidades para dos genotipos *r* y *s*:

		Genotipo s		
		1	0	
Genotipo r	1	a	b	a + b
	0	c	d	c + d
		a + c	b + d	a+b+c+d=p

El número de coincidencias positivas (1,1) se representa por a , y d es el número de coincidencias doble cero. Las discordancias (1,0) y (0,1) son representadas por b y c , respectivamente. Con base en estas opciones se han construido varios coeficientes de similitud S_{rs} , y la distancia (disimilitud) está dada por $d_{rs} = 1 - S_{rs}$ (Khattree y Naik, 2000). La definición de cuál coeficiente de similitud utilizar para un estudio en particular, es muy subjetiva y en los diferentes estudios publicados no se explica. Duarte *et al.*, (1999) compararon 8 coeficientes de similitud en frijol común con marcadores tipo RAPD. Los 8 coeficientes generaron agrupamientos parecidos con pocas variaciones, y concluyeron que el coeficiente de Sorensen-Dice fue el más adecuado, y en segundo lugar el de Jaccard. Este último con la ventaja de ser más simple y fácil de interpretar. No es de extrañar que en muchos estudios que involucran el uso de marcadores moleculares dominantes se utilice el coeficiente de similitud de Jaccard:

$$S_{rs} = \frac{a}{a + b + c}$$

Este excluye d , que es irrelevante en dichos marcadores, ya que la ausencia de amplificación de una banda determinada en dos genotipos, no necesariamente representa similitud genética entre ellos.

Predicción de rendimiento en cruzas simples

Covarianza genética entre cruzas simples

Se asume que x y x' denotan líneas homocigóticas del grupo heterótico X, y que y y y' denotan líneas homocigóticas del grupo heterótico Y. También se asume que las líneas de X y Y no están emparentadas. El valor genético (expresado como una desviación de la media de la población) del híbrido (xy) en el k -ésimo locus es (Bernardo, 1994):

$$G_{ij/k} = \alpha_{i/k}^X + \alpha_{j/k}^Y + \delta_{i/k j/k}^{X Y}$$

Donde: $\alpha_{i/k}^X$ es el efecto aditivo de la craza del alelo i_k^X (recibido del grupo heterótico X por medio de la línea x) en el locus k ; $\alpha_{j/k}^Y$ es el efecto aditivo de la craza del alelo j_k^Y (recibido del grupo heterótico Y por medio de la línea y) en el locus k ; y $\delta_{i/k j/k}^{X Y}$ es el efecto de dominancia del par alélico $i_k^X j_k^Y$ en el locus k .

Si la epistasis es insignificante, no hay ligamiento, y existe equilibrio gamético en X y Y, la expresión para la covarianza genética entre los híbridos (xy) y ($x'y'$) se reduce a (Melchinger, 1988):

$$\text{Cov}[(xy), (x'y')]$$

$$= \sum [f_{xx'} \sum p_{i/k}^X (\alpha_{i/k}^X)^2 + f_{yy'} \sum p_{j/k}^Y (\alpha_{j/k}^Y)^2 + f_{xx'} f_{yy'} \sum \sum p_{i/k}^X p_{j/k}^Y (\delta_{i/k j/k}^{X Y})^2]$$

$$= f_{xx'} V_{A(X/Y)} + f_{yy'} V_{A(Y/X)} + f_{xx'} f_{yy'} V_{D(XY)} \quad [\text{Eq. 1}]$$

Donde $f_{xx'}$ es el coeficiente de coancestría entre las líneas x y x' ; $f_{yy'}$ es el coeficiente de coancestría entre las líneas y y y' ; $p_{i/k}^X$ es la frecuencia del alelo i_k^X en el grupo heterótico X; $p_{j/k}^Y$ es la frecuencia del alelo j_k^Y en el grupo heterótico Y; $V_{A(X/Y)}$ es la varianza aditiva de los mestizos considerando todos

los loci involucrados ($k=1, 2, \dots, l$); $V_{A(Y/X)}$ es la varianza aditiva de los mestizos considerando los l loci involucrados ($k=1, 2, \dots, l$); $V_{D(XY)}$ es la varianza de dominancia que involucra los l loci ($k=1, 2, \dots, l$) de los pares alélicos de la forma $i_k^X j_k^Y$.

Los coeficientes de coancestría ($f_{xx'}$ y $f_{yy'}$) pueden ser calculados de los registros de pedigree, o de marcadores moleculares de ADN como lo indica Bernardo (1993):

$$f_{xx'}^R = [S_{xx'} - 1/2(S_{xy} + S_{x'y})] / [1 - 1/2(S_{xy} + S_{x'y})] \quad [\text{Eq. 2}]$$

Donde $f_{xx'}^R$ es el coeficiente de coancestría entre las líneas x y x' , calculado con marcadores moleculares; $S_{xx'}$ es la proporción de variantes comunes en x y x' ; y S_{xy} (o $S_{x'y}$) es la proporción promedio de variantes comunes en x (o x') y una serie de líneas del grupo heterótico Y .

Estimación de varianzas genéticas

Los diseños de cruza tradicionales para estimar las varianzas genéticas, tales como el programa de cruzamientos Diseño II, son aplicables si las líneas progenitoras no son emparentadas. Debido a que las líneas progenitoras utilizadas en la predicción del rendimiento de cruza simples son emparentadas tales diseños de cruzamientos no pueden ser utilizados. En contraste, el procedimiento de máxima verosimilitud restringida (REML), para estimar varianzas genéticas considera la relación entre líneas (Henderson, 1985). Suponer que n cruza simples son hechas entre n_X líneas del grupo heterótico X y n_Y líneas del grupo heterótico Y . Las cruza simples son evaluadas en t diferentes ensayos de rendimiento resultando en p observaciones totales. Si todas las cruza simples posibles entre los grupos heteróticos son evaluadas, $n = n_X n_Y$, y si todas las cruza simples son evaluadas en cada ensayo de

rendimiento, $p = nt$. El modelo lineal es:

$$y = X\beta + Z_1a_X + Z_2a_Y + Zd + e$$

Donde y es un vector de dimensiones $px1$ de rendimientos observados; β es un vector de efectos de ensayos; a_X un vector $n_X \times 1$ de efectos de aptitud combinatoria general (ACG) de líneas del grupo heterótico X; a_Y es un vector $n_Y \times 1$ de efectos de ACG de líneas del grupo heterótico Y; d es un vector $nx1$ de efectos de aptitud combinatoria específica (ACE); e un vector de residuos y X , Z_1 , Z_2 y Z son matrices de incidencia de 1's y 0's que relacionan y a β , a_X , a_Y y d , respectivamente.

La descomposición de la Ecuación 1, conduce a las covarianzas entre efectos de ACG y entre ACE. La matriz de covarianzas de a_X es $A_1 V_{A(X/Y)}$. Los elementos de la diagonal de A_1 son iguales a 1 y los elementos de fuera de la diagonal son iguales al $f_{xx'}$ entre las líneas correspondientes. Similarmente, la matriz de covarianzas de a_Y es $A_2 V_{A(Y/X)}$. Los elementos de la diagonal de A_2 son iguales a 1 y los de fuera de la diagonal iguales al $f_{yy'}$. La matriz de covarianzas de d es $D V_{D(XY)}$, los elementos de la diagonal de D son iguales a 1 y los de fuera de la diagonal son iguales a $f_{xx'} f_{yy'}$.

Por ejemplo: Suponga que 5 ($n = 5$) híbridos realizados entre 2 ($n_X = 2$) líneas de X y 3 ($n_Y = 3$) líneas de Y, se evalúan en 2 ($t = 2$) ensayos y sus rendimientos son:

Ensayo de rendimiento	Híbrido	Rendimiento
1	Línea X1 x Línea Y1	10
1	Línea X1 x Línea Y2	15
1	Línea X1 x Línea Y3	12
1	Línea X2 x Línea Y3	20
2	Línea X1 x Línea Y1	15
2	Línea X2 x Línea Y2	20

El sistema de ecuaciones es:

$$y = X \beta + Z_1 a_x + Z_2 a_y + Z d$$

$$\begin{bmatrix} 10 \\ 15 \\ 12 \\ 20 \\ 15 \\ 20 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_{x1} \\ a_{x2} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_{y1} \\ a_{y2} \\ a_{y3} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} d_1 \\ d_2 \\ d_3 \\ d_4 \\ d_5 \end{bmatrix}$$

Los efectos no genéticos no están correlacionados, β , a_x , a_y y d pueden ser estimados del siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{a}_x \\ \hat{a}_y \\ \hat{d} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'X & X'Z_1 & X'Z_2 & X'Z \\ Z_1'X & Z_1'Z_1 + A_1^{-1}\Phi_1 & Z_1'Z_2 & Z_1'Z \\ Z_2'X & Z_2'Z_1 & Z_2'Z_2 + A_2^{-1}\Phi_2 & Z_2'Z \\ Z'X & Z'Z_1 & Z'Z_2 & Z'Z + D^{-1}\Phi_3 \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} X'y \\ Z_1'y \\ Z_2'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

$$= \begin{bmatrix} C_{00} & C_{01} & C_{02} & C_{03} \\ C_{10} & C_{11} & C_{12} & C_{13} \\ C_{20} & C_{21} & C_{22} & C_{23} \\ C_{30} & C_{31} & C_{32} & C_{33} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X'y \\ Z_1'y \\ Z_2'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

Donde V_E = Varianza no genética; $\Phi_1 = V_E/V_{A(X/Y)}$; $\Phi_2 = V_E/V_{A(Y/X)}$; $\Phi_3 = V_E/V_{D(XY)}$.

Las estimaciones REML de varianzas no genéticas y genéticas se obtienen por iteración (Henderson, 1985):

$$V_E = [y'y - (\text{vector solución})'(\text{vector del lado derecho})]/(p - t)$$

$$V_{A(X/Y)} = (\mathbf{a}_X' \mathbf{A}_1^{-1} \mathbf{a}_X + V_E \text{tr} \mathbf{A}_1^{-1} \mathbf{C}_{11}) / n_X$$

$$V_{A(Y/X)} = (\mathbf{a}_Y' \mathbf{A}_2^{-1} \mathbf{a}_Y + V_E \text{tr} \mathbf{A}_2^{-1} \mathbf{C}_{22}) / n_Y$$

$$V_{D(XY)} = (\mathbf{d}' \mathbf{D}^{-1} \mathbf{d} + V_E \text{tr} \mathbf{D}^{-1} \mathbf{C}_{33}) / n$$

Donde tr = es el operador traza; es decir, la suma de los elementos de la diagonal de la matriz.

El mejor predictor lineal insesgado (BLUP) del rendimiento de una cruza simple

El rendimiento de un conjunto de m cruzas simples no realizadas o pérdidas, puede ser predicho con base en los rendimientos de un conjunto de n híbridos predictores. Sea $\mathbf{y}_p$ el vector $nx1$ de rendimientos promedio de híbridos predictores, corregidos por efecto de ensayo de rendimiento:

$$\mathbf{y}_p = (\mathbf{Z}' \mathbf{Z})^{-1} \mathbf{Z}' (\mathbf{y} - \mathbf{X} \boldsymbol{\beta}) \quad [\text{Eq. 3}]$$

Donde $\mathbf{Z}$, $\mathbf{y}$, $\mathbf{X}$ y $\boldsymbol{\beta}$ se definieron en la sección anterior. Los rendimientos de las cruzas simples no realizadas pueden ser predichos por:

$$\mathbf{y}_M = \mathbf{C} \mathbf{V}^{-1} \mathbf{y}_p \quad [\text{Eq. 4}]$$

Donde: $\mathbf{y}_M = mx1$ vector de rendimientos predichos de cruzas simples perdidas; $\mathbf{C}$ es de dimensiones mxn y corresponde a la matriz de covarianzas genéticas entre la i -ésima cruza simple perdida y el j -ésimo híbrido predictor; y $\mathbf{V}$ es de dimensiones nxn es una matriz de varianzas-covarianzas fenotípicas entre los híbridos predictores. Asumiendo que los efectos no genéticos no están correlacionados, los elementos de $\mathbf{C}$, al igual que, los elementos de fuera de la diagonal de $\mathbf{V}$, son calculados según la Ecuación 1. El i -ésimo elemento de la diagonal de $\mathbf{V}$ es igual a $V_{A(X/Y)} + V_{A(Y/X)} + V_{D(XY)} + V_E / (\text{Número de observaciones del } i\text{-ésimo híbrido predictor})$.

El coeficiente de correlación

El coeficiente de correlación ($r_{X,Y}$) es una medida del grado en que dos variables X y Y varían conjuntamente o una medida de la intensidad de asociación de éstas (Steel y Torrie, 1985), y se define como $r_{X,Y} = S_{X,Y} / (S_X S_Y)$. Así que puede ser conceptualizado como la covarianza entre las variables X y Y, cuando los datos de cada variable han sido divididos por su correspondiente desviación estándar (Sahagún, 2007). Comparado con la covarianza, r tiene la ventaja de ser independiente de las unidades de medición, además de estar restringido a tomar valores en el intervalo $[-1,1]$. Sus valores se acercan a 1 cuando la relación entre las dos variables es más intensa y positiva. Se aproxima a -1 en la medida en que la intensidad de asociación es negativa. Coeficientes de correlación cercanos o iguales a 0, manifiestan una baja o nula correlación lineal entre las dos variables, respectivamente.

Cuando resultado del muestreo practicado en una población, se estimen más de dos coeficientes de correlación y se desee probar si son homogéneos, es prudente utilizar la prueba de χ^2 (Steel y Torrie, 1985). Como $(-1 \leq r \leq 1)$, no se puede esperar que la distribución muestral de r sea simétrica cuando el parámetro poblacional (ρ) es diferente de cero. La simetría ocurre sólo para $\rho=0$, y la asimetría aumenta al acercarse ρ a +1 o -1. Esto quiere decir que para muestras pequeñas, no es apropiado asumir una distribución normal. Por lo anterior, se recomienda realizar la transformación de r a Z' :

$$Z' = 0.5 \ln \frac{1+r}{1-r}$$

La variable Z' tiene aproximadamente distribución normal con una media aproximada y desviación estándar de $0.5 \ln[(1+\rho)/(1-\rho)]$ y $1/\sqrt{n-3}$, independientemente del valor de ρ , y n es el número de observaciones consideradas en el cálculo de r .

Debido a que generalmente las varianzas $[1/(n_i - 3)]$ serán desiguales, se usa una media ponderada $\bar{Z}'_w$ en los cálculos:

$$\bar{Z}'_w = \frac{\sum (n_i - 3)Z'_i}{\sum (n_i - 3)}$$

Como se mencionó, el criterio de prueba es χ^2 :

$$\chi^2 = \sum_i Z_i^2 = \sum_i \left(\frac{Y_i - \mu_i}{\sigma_i} \right)^2$$

Donde $Z'_i - \bar{Z}'_w$ reemplaza a Y_i ; y cero, la media de la población de todas las posibles desviaciones, reemplaza a μ_i . La desviación estándar σ_i se sustituye por $1/\sqrt{n_i - 3}$, así:

$$\chi_c^2 = \sum_i \left(\frac{Z'_i - \bar{Z}'_w}{1/\sqrt{n_i - 3}} \right)^2 = \sum_i (n_i - 3)(Z'_i - \bar{Z}'_w)^2$$

El número de grados de libertad es $k-1$, k es el número de correlaciones. Finalmente la ji-cuadrada calculada (χ_c^2) se compara con la ji-cuadrada de tablas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del experimento

La investigación se realizó de febrero de 2010 a agosto de 2011, en el invernadero del Programa de Mejoramiento Genético de jitomate y en el Laboratorio de Mejoramiento Asistido con Marcadores Moleculares del Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo. El trabajo constó de tres etapas: 1) caracterización genotípica (huellas genómicas) de 97 genotipos, mediante 17 iniciadores ISSR; 2) caracterización fenotípica (ensayo de rendimiento) de 40 híbridos generados por el cruzamiento de líneas puras; y 3) elaboración de una ecuación de predicción de rendimiento de cruza simples de jitomate con el auxilio de huellas genómicas obtenidas por ISSR.

Genotipos empleados

Los genotipos evaluados fueron 92 líneas avanzadas provenientes de la selección de poblaciones segregantes producto de cruzamientos entre variedades e híbridos comerciales de jitomate. Así mismo se incluyeron cinco selecciones de colectas de jitomate nativo de fruto tipo riñón. Estos materiales provienen del Programa de Mejoramiento Genético de Jitomate del Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo.

Caracterización genotípica

a) Extracción de ADN

Los genotipos se sembraron en charolas de poliestireno de doscientas cavidades con peat-moss como sustrato. Entre 40 y 50 días después de la siembra se obtuvieron muestras de tejido (hojas verdes y tiernas, sin daño aparente). Para cada muestra se precalentaron 700 µL de amortiguador de extracción (Tris HCl 100 mM, EDTA 50 mM, NaCl 500 mM, 2-mercaptoetanol 10

mM, SDS 1.3 %, pH 8.0), contenidos en un microtubo de 1.5 mL a 65 °C en el termoblock. Las hojas de plántulas se lavaron con alcohol a 70 % y se secaron con toallas de papel. Se pesó 0.3 g de hoja y colocó en un mortero de porcelana, se agregó nitrógeno líquido y molió hasta obtener un polvo fino. Éste se transfirió al microtubo y se agitó hasta homogenizar. Nuevamente se calentó a 65 °C durante 10 minutos en termoblock, posteriormente se agregaron 200 µL de acetato de potasio 5M y enfrió en el congelador durante 30 a 60 minutos, luego se centrifugó por 20 minutos a 20,000 xg. El sobrenadante se transfirió a un microtubo que contenía 600 µL de isopropanol preenfriado y nuevamente se mantuvo en el congelador de 30 a 60 minutos, para precipitar el ADN, se centrifugó a 12,000 xg durante 10 minutos y decantó el sobrenadante. A la pastilla se agregaron 500 µL de solución para disolver (Tris HCl 10 mM, EDTA 1 mM, NaCl 10 mM, pH 8.0) y se dejó en refrigeración durante una noche.

Una vez resuspendido el ADN se agregaron 500 µL de la mezcla cloroformo-alcohol isoamílico (24:1), se agitó vigorosamente hasta homogenizar para luego centrifugar a 12,000 xg por 4 minutos. La fracción acuosa se separó y se pasó a un tubo nuevo. Se agregaron 4 µL de ARNasa e incubó a 37 °C por una hora. Para reprecipitar el ADN se usó 75 µL de acetato de sodio 3M y 500 µL de isopropanol frío, se agitó por inversión e introdujo al congelador por 1 a 2 horas. Se centrifugó a 12,000 xg durante 5 minutos, se eliminó el sobrenadante y lavó la pastilla de ADN con 500 µL de etanol a 70 % (grado reactivo). Nuevamente se centrifugó, eliminó el sobrenadante y secó la pastilla a temperatura ambiente. Finalmente, ésta se disolvió con 50 µL de TE para después almacenar a 4 °C.

b) Cuantificación de la pureza y calidad del ADN

En un microtubo de 1.5 mL se colocaron 594 µL de agua destilada y 6 µL de la solución de ADN. La nueva solución se transfirió a una celda de cuarzo evitando que se formaran burbujas. La celda se introdujo en el

espectrofotómetro y se registró la lectura a 260 nm. La concentración de ADN se determinó con la fórmula siguiente:

$$\text{ADN } \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1} = \frac{A_{260} \times 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \times \text{Factor de dilución}}{1000}$$

Una vez que se definió la cantidad de ADN, se procedió a uniformizar todas las muestras llevándolas a una concentración de $100 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, para finalmente preparar soluciones de trabajo con $10 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ de ADN.

Para evaluar la calidad del ADN, se hizo un gel de calidad. El gel de 4 mm de grosor se elaboró con agarosa al 0.8 % y TAE a 0.5 %. En cada pozo se depositaron 10 μL de la solución de trabajo con ADN. La electroforesis se realizó por dos horas, posteriormente se retiró el gel para teñirlo con una solución de Bromuro de etidio en concentración de $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ durante 20 minutos. Finalmente se fotografió el gel con un fotodocumentador modelo MiniBIS Pro, de la compañía DNR Bio-Imaging Systems. El ADN de las muestras que generaron manchas muy tenues o demasiado oscuras se concentró o diluyó, respectivamente, se repitió el gel de calidad y una vez que las muestras generaron manchas uniformes se procedió a la reacción de PCR.

c) PCR Condiciones de amplificación y separación de fragmentos

Se emplearon diecisiete iniciadores ISSR en este estudio, la temperatura de alineamiento varió desde 43 hasta 68 °C (Cuadro 2). La reacción de amplificación se realizó con un volumen final de 25 μL , la mezcla de reacción consistió de: 5.2 μL de H_2O grado Biología Molecular, 10.0 μL de dNTP's [500 μM], 2.5 μL de amortiguador [10 x], 1.5 μL de MgCl_2 [50 mM], 3.0 μL de iniciador ISSR [10 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$], 0.3 μL de enzima Taq DNA polimerasa [5 $\text{u} \cdot \mu\text{L}^{-1}$], y 2.5 μL de ADN [10 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$]. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador modelo FTC41H2D de la marca TECHNE, con el siguiente programa: desnaturalización

inicial a 93 °C por 1 min; seguido de cuarenta ciclos, cada uno con: 20 s a 93 °C, 60 s a la temperatura del iniciador probado y 20 s a 72 °C; una extensión final a 72 °C por 6 min. Para concluir la muestra se enfrió hasta 10 °C. Los productos finales se llevaron a la cámara de electroforesis para su separación en gel de agarosa a 2 % con TAE 0.5 %, así como su posterior tinción con bromuro de etidio y fotodocumentación.

d) Análisis de geles

El análisis de la información obtenida se inició con la identificación de las bandas generadas por cada iniciador ISSR. Se consideraron los patrones de manchas más claros, nítidos y que no generaran duda. Con el número de bandas amplificadas por cada iniciador se calculó el porcentaje de polimorfismo. Se asignó 1 a la presencia y 0 a la ausencia de cada posición relativa de una mancha. La matriz de datos binarios elaborada sirvió para construir el coeficiente de similitud de Jaccard (S_{rs}) (Khattree y Naik, 2000). La matriz de disimilitud entre los genotipos fue obtenida según la expresión $d = 1 - S_{rs}$, que se utilizó para hacer el agrupamiento y dendrograma correspondiente mediante el método de varianza mínima de Ward, usando el programa Infostat®.

Caracterización fenotípica de cruas simples de jitomate

En el año 2010 se realizó la evaluación de 92 líneas avanzadas del programa de jitomate. Éstas fueron originadas por medio de cruas entre diferentes híbridos y variedades comerciales, con selección en sus generaciones segregantes. El invernadero utilizado fue de 1,000 m² de superficie en planta, con tecnología de producción intermedia, semi automatizado, cubierto con polietileno calibre 600, 60 % de transmisión de luz, ventilas frontales, laterales y superiores protegidas con malla antiáfido 25x40. El sistema de producción fue en hidroponía con espuma volcánica (tezontle rojo) como sustrato, con

partículas menores a 3 mm de diámetro. Se usaron bolsas de polietileno negro con capacidad de dieciocho litros. La solución nutritiva utilizada (Cuadro 1) fue la propuesta por Cadahia (2000), suministrada a la planta por medio de un sistema de riego por goteo, mediante manguera con goteros cada 50 centímetros y un gasto de un galón·hora⁻¹. El volumen de agua aplicada varió según la etapa fenológica y las condiciones climáticas del cultivo.

CUADRO 1. Concentración de macroelementos (meq.L⁻¹) y microelementos (ppm) de la solución nutritiva para el cultivo de jitomate (Cadahia, 2000).

Cationes	Aniones			
	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻	Total
K ⁺	5	2	2	9
Ca ⁺⁺	10	0	0	10
Mg ⁺⁺	0	0	3	3
Total	15	2	5	22

Microelementos: 2 ppm de Fe, 1ppm de Mn, 0.1 ppm de Cu, 0.1 ppm de Zn, 0.5 ppm de B y 0.05 ppm de Mo. pH a 5.7 y 3.0 mS·cm⁻¹ de conductividad eléctrica.

La siembra de las líneas se realizó en charolas de poliestireno expandido de 200 cavidades con peat-moss como sustrato. El trasplante a las macetas se hizo treinta y cinco días después de la siembra. La unidad experimental consistió en dos macetas, se trasplantó dos plantas por maceta colocadas a 50 centímetros de distancia entre hileras y entre macetas, la densidad de plantación fue de 3.7 plantas·m⁻². Cada planta se tutoró de manera individual y se podó a un sólo tallo, durante el ciclo de cultivo se podaron hojas y brotes axilares. Se hicieron aplicaciones preventivas de fungicidas e insecticidas para controlar lepidópteros y mosquita blanca.

De esta evaluación, se seleccionaron trece materiales de alto rendimiento, pertenecientes a los dos grupos heteróticos con mayor número de líneas, el grupo X conformado por las líneas 58, 77, 76, 92 y 93, y el grupo Y integrado por las líneas 10, 14, 25, 28, 42, 43, 44 y 52. Los genotipos se sembraron en

julio del 2010 y una vez llegada la floración manualmente se hicieron las 40 cruzas directas posibles entre ambos grupos. Al alcanzar la madurez los frutos, se cosecharon para extraer la semilla y proceder a su siembra en la primavera del 2011. Los 40 híbridos se sembraron en el invernadero bajo un diseño experimental látice con 3 repeticiones. La unidad experimental consistió nuevamente de dos macetas con dos plantas por maceta. Las plantas se desarrollaron en hidroponía y se guiaron hasta cuatro racimos como en la primera evaluación. La variable evaluada fue el rendimiento de fruto por planta, para esto se registró la producción de los primeros cuatro racimos.

Predicción de rendimiento de cruzas simples de jitomate

Los 17 marcadores moleculares ISSR empleados permitieron, a partir de 107 bandas polimórficas, ubicar en cuatro grupos a los 97 genotipos estudiados. Se tomaron los dos grupos más grandes que contenían 35 y 26 accesiones. De éstas, 8 y 5 fueron líneas utilizadas como progenitores en el ensayo de rendimiento, respectivamente. Para predecir el rendimiento de las cruzas no realizadas, se aplicó el método del mejor predictor lineal insesgado o BLUP (best linear unbiased predictions), (Bernardo, 1994; 1995; 1996). Se diseñó un programa en IML de SAS con el que, con los rendimientos observados de los 40 híbridos evaluados y con las huellas genómicas obtenidas por ISSR de las líneas progenitoras, se calculó los coeficientes de coancestría (Ecuación 2) y las estimaciones de las varianzas. Las iteraciones se hicieron hasta alcanzar una tolerancia igual o menor a 0.0001.

Se trabajó con siete conjuntos de n híbridos predictores ($n=5, 10, 15, 20, 25, 30$ y 35), seleccionados al azar. Los rendimientos de dichos híbridos se calcularon con la Ecuación 3, que considera el β estimado con los rendimientos de las 40 cruzas simples evaluadas. Con el rendimiento de los n híbridos predictores, se predijó el rendimiento de los $40-n$ híbridos no evaluados ($40-n=35, 30, 25, 20,$

15, 10 y 5, respectivamente) con la Ecuación 4. Se calculó el coeficiente de correlación lineal muestral, entre los rendimientos predichos y los observados. Se diseñó un programa en IML de SAS con el que se hicieron 100 y 1000 estimaciones para cada conjunto de n híbridos predictores. Se hizo una prueba de Ji-cuadrada (Steel y Torrie, 1985), para determinar la homogeneidad de los coeficientes de correlación.

Finalmente, se predijo el rendimiento de 567 cruzas simples de jitomate, generadas con la combinación de las 27 y 21 líneas no evaluadas de los dos grupos heteróticos seleccionados. Para inferir qué genotipos serían sobresalientes, se estimó el rendimiento promedio de cada línea, para esto se promediaron los 21 o 27 rendimientos predichos de los híbridos en que participó la línea X o Y respectiva.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) Agrupamiento de genotipos

Se usaron 17 iniciadores ISSR para caracterizar la divergencia genética de 92 líneas avanzadas y 5 materiales nativos del programa de mejoramiento genético de jitomate del Instituto de Horticultura de la UACH. Se amplificaron 116 bandas. De éstas, 107 fueron polimórficas (Cuadro 2). El número de bandas por iniciador varió desde 3 (UBC 820, 822, 828 y 829) hasta 13 (ISSR7 y UBC862), con un promedio de 6.82. Estos datos son bajos comparados con los de Aguilera *et al.* (2011), que muestran la amplificación de 9 a 22 bandas por iniciador, con un promedio de 14.4, pero reportaron un reducido nivel de polimorfismo (34.02 %); en promedio, sólo 5.3 bandas por iniciador fueron polimórficas. Mientras que en el trabajo actual, se amplificaron 6.29 bandas polimórficas por ISSR y el porcentaje general de polimorfismo fue de 92.2 % (con un mínimo de 33 y un máximo de 100 %).

CUADRO 2. Iniciadores ISSR utilizados en la caracterización de la divergencia genética de noventa y siete genotipos de jitomate, temperatura de alineamiento empleada (Ta), número total de bandas amplificadas (NTBA), número de bandas polimórficas (NBP) y porcentaje de polimorfismo (PP).

Iniciador	Secuencia	Ta (°C)	NTBA	NBP	PP (%)
ISSR1	(CA) ₈ AAGG ^z	62	10	10	100
ISSR3	(GA) ₈ CTC	49	8	8	100
ISSR4	(AG) ₈ CTC	55	5	5	100
ISSR6	(AC) ₈ CTG	59	9	9	100
ISSR7	(AG) ₈ CTG	53	13	13	100
ISSR8	(AC) ₈ CTT	57	10	10	100
ISSR9	(AG) ₈ C	47	5	5	100
ISSR10	(GA) ₈ T	43	6	6	100
UBC820	(GT) ₈ C	50	3	2	67
UBC822	(TC) ₈ A	46	3	1	33
UBC823	(TC) ₈ C	48	4	3	75
UBC828	(TG) ₈ A	54	3	2	67
UBC829	(TG) ₈ C	56	3	2	67
UBC840	(GA) ₈ YT	51	8	7	88
UBC841	(GA) ₈ YC	51	9	9	100
UBC862	(AGC) ₆	68	13	13	100
UBC866	(CTC) ₆	60	4	2	50
Total			116	107	92

^zBases: A=adenina, G=guanina, C=citosina, T=timina, Y=citosina+timina.

Los iniciadores en cuya secuencia de aminoácidos se incluyó la adenina en combinación con guanina o citosina (GA, AG, CA, AC, o AGC) generaron el mayor número de bandas y sobre todo bandas polimórficas (Cuadro 2). Por esta razón los iniciadores identificados como ISSR, previamente reportados por Bojinov y Danailov (2009), dieron mejores resultados que los UBC (University of British Columbia).

Resultado de los marcadores obtenidos es el dendrograma de la Figura 1. El criterio cúbico de agrupamiento (CCC) sugirió considerar tres grupos, en tanto el pseudo-estadístico T^2 , cuatro. Al trazar la línea de corte en 0.8, se observan cuatro conjuntos de líneas homocigóticas, agrupadas con base en su disimilitud o distancia genética. La distancia genética promedio fue de 0.304. La mayor disimilitud (0.64) fue entre las líneas 39 y 50, la línea 39 también registró el segundo valor más disímil (0.62) en su combinación con las líneas 47, 56, 62 y 71. En contraste, las líneas más parecidas fueron la 54 y 53 con una disimilitud de 0.05, lo que indica que comparten el mismo origen genético. Otras líneas con alto parentesco son 14 y 16, 67 y 72, así como los silvestres 4 y 5, con disimilitud de 0.08.

Los cuatro grupos heteróticos definidos en el dendrograma se enumeran en el Cuadro 3. El grupo uno se construyó por 23 líneas, éste es el más alejado o divergente. El grupo dos, fue el más pequeño con sólo 13 genotipos, incluye los cinco nativos y la línea 39. Los grupos tres y cuatro constaron de 35 y 26 líneas, respectivamente. Todos los conglomerados fueron muy heterogéneos; se construyeron con materiales de crecimiento determinado e indeterminado, fruto tipo riñón, cherry, saladete y bola, y color de fruto amarillo, naranja o rojo. En cuanto a rendimiento, los grupos dos, tres y cuatro incluyen materiales muy productivos (6, 9 y 5 líneas, respectivamente); el grupo uno aglutina genotipos de medio a bajo rendimiento.

Los grupos heteróticos tres y cuatro fueron seleccionados para pronosticar el rendimiento de cruzas simples de jitomate. De manera arbitraria, el grupo cuatro se denominó grupo X y se conformó por 5 líneas (58, 76, 77, 92 y 93). El grupo

heterótico tres fue llamado grupo Y, constituido por 8 líneas (10, 14, 25, 28, 42, 43, 44 y 52).

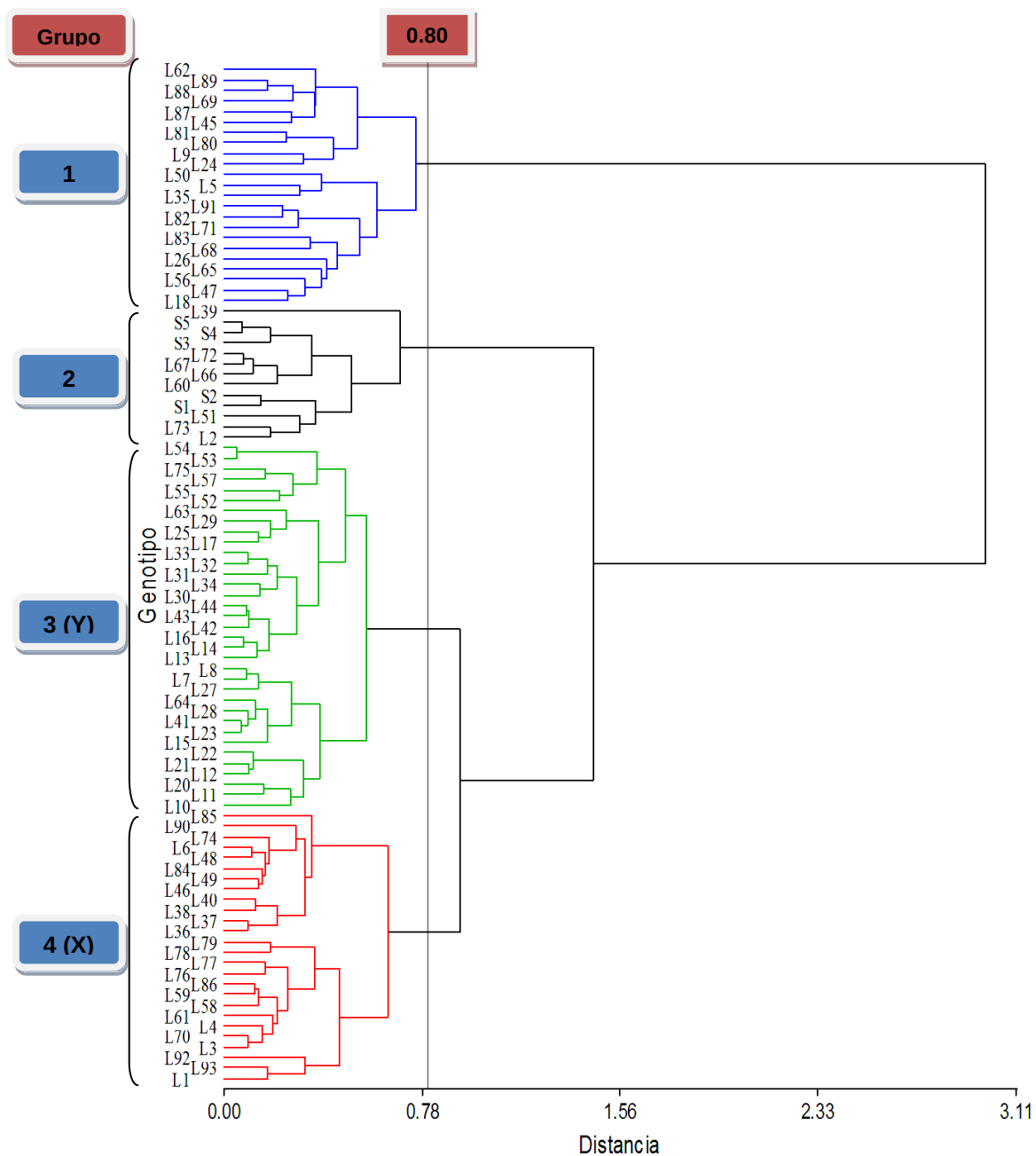


FIGURA 1. Dendrograma de disimilaridad genética entre 97 genotipos de jitomate, distancia de Jaccard y método de la varianza mínima de Ward.

CUADRO 3. Agrupamiento de 92 líneas y 5 genotipos nativos de jitomate, distancia de Jaccard y método de la varianza mínima de Ward.

Grupo	Genotipos	Líneas de alto rendimiento
1	L62, L89, L88, L69, L87, L45, L81, L80, L09, L24, L50, L05, L35, L91, L82, L71, L83, L68, L26, L65, L56, L47 y L18.	
2	L39, S05, S04, S03, L72, L67, L66 L60, S2, S01, L51, L73 y L02.	L51, L60, L66 L67, L72 y L73.
3 (Y)	L54, L53, L75, L57, L55, L52, L63, L29, L25, L17, L33, L32, L31, L34, L30, L44, L43, L42, L16, L14, L13, L08, L07, L27, L64, L28, L41, L23, L15, L22, L21, L12, L20, L11 y L10.	L10, L11, L14, L25, L28, L42, L43, L44 y L52.
4 (X)	L85, L90, L74, L06, L48, L84, L49, L46, L40, L38, L37, L36, L79, L78, L77, L76, L86, L59, L58, L61, L04, L70, L03, L92, L93 y L01.	L58, L77, L76, L92 y L93.

b) Rendimiento de híbridos, varianzas genéticas y coeficientes de coancestría.

El rendimiento de fruto por planta de los 40 híbridos producidos entre 5 líneas homocigóticas del grupo X y 8 del grupo Y se presenta en el Cuadro 4. El promedio general de producción de fruto fue de $2.316 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1}$, y varió desde 1.329 en la cruza 93x14 hasta $3.300 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1}$ en el híbrido 76x43. El rendimiento promedio estimado mediante el BLUP fue de $2.333 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1}$.

Del grupo X, las líneas más rendidoras fueron la 76 ($2.823 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1}$) y la 77 ($2.546 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1}$). En tanto que la peor línea fue la 93 ($1.861 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1}$). Para el grupo Y, las líneas más rendidoras fueron la 10 y 43 (2.799 y $2.566 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1}$, respectivamente). En contraste la línea de peor producción fue la 25 ($1.721 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1}$).

CUADRO 4. Rendimiento de fruto por planta de los híbridos de jitomate entre cinco líneas del grupo heterótico X y ocho líneas del grupo heterótico Y.

Líneas	L10	L14	L25	L28	L42	L43	L44	L52
Rendimiento (kg/planta ⁻¹)								
L58	3.065	2.197	2.283	1.708	2.289	2.353	2.350	2.093
L76	2.768	2.995	1.601	2.903	2.971	3.300	2.886	3.160
L77	3.032	2.537	1.694	2.547	2.535	2.800	2.475	2.745
L92	2.569	1.640	1.668	1.887	2.210	2.052	2.178	2.268
L93	2.559	1.329	1.359	1.631	1.796	2.324	2.149	1.742

La información obtenida con los marcadores ISSR sirvió para calcular los coeficientes de coancestría de cada par de las líneas del grupo heterótico X y Y (Cuadros 5 y 6). En el grupo X, los coeficientes fueron relativamente bajos (en promedio 0.1429), variaron desde cero entre los pares de líneas (58,92), (77,92) y (77,93), hasta 0.3509 en el par (76,77). De hecho, por el método que se utilizó para calcular el coeficiente, se presentaron valores negativos y dado que por definición el coeficiente de coancestría no puede ser negativo, es que se asignó cero.

CUADRO 5. Coeficientes de coancestría entre cinco líneas del grupo heterótico X, calculados mediante marcadores ISSR.

Líneas	58	76	77	92	93
58	1.0000	0.2648	0.1708	0.0000	0.0651
76		1.0000	0.3509	0.1195	0.2510
77			1.0000	0.0000	0.0000
92				1.0000	0.2071
93					1.0000

Las 8 líneas del grupo heterótico Y presentaron valores más altos en sus coeficientes de coancestría (promediaron 0.3098). Los registros fueron desde cero para los pares de líneas (10,43) y (10,52), hasta 0.6315 en el par (42,43). Las líneas 42, 43 y 44 en sus diferentes combinaciones mostraron coeficientes de coancestría altos y homogéneos, lo que sugiere que son genotipos con el

mismo origen; es decir, son parientes cercanos. Del grupo Y, la línea 10 es la menos emparentada, sus registros fueron consistentemente los más bajos. Caso contrario fue la línea 14 que con excepción de la línea 10, mantuvo coeficientes elevados en todas sus combinaciones.

CUADRO 6. Coeficientes de coancestría entre ocho líneas del grupo heterótico Y, calculados mediante marcadores ISSR.

Líneas	10	14	25	28	42	43	44	52
10	1.0000	0.0831	0.1620	0.0030	0.0329	0.0000	0.0180	0.0000
14		1.0000	0.4212	0.4866	0.5757	0.6194	0.5676	0.3356
25			1.0000	0.2590	0.3531	0.2161	0.2574	0.1797
28				1.0000	0.3011	0.4412	0.4933	0.1046
42					1.0000	0.6315	0.5814	0.2773
43						1.0000	0.6244	0.3844
44							1.0000	0.2658
52								1.0000

Las estimaciones de las varianzas genéticas y no genética, con marcadores ISSR mediante el BLUP, fueron: 0.1812 varianza aditiva de líneas del grupo X ($V_{A(X/Y)}$), 0.1957 varianza aditiva de líneas del grupo Y ($V_{A(Y/X)}$), 0.1061 varianza de dominancia ($V_{D(XY)}$) y 0.0128 varianza no genética (V_E). Con estos valores, la estimación de la varianza genética (V_G) fue 0.4831 y la de la varianza fenotípica (V_F) fue 0.4959. La heredabilidad en sentido estrecho (h^2) del rendimiento fue 0.7803 y la heredabilidad en sentido amplio (H^2) 0.9742. La alta H^2 indica que la variabilidad de tipo aditivo es muy alta (97.42 %). El valor estimado de h^2 en esta investigación dista del publicado por Dordevic *et al.* (2010), quienes reportan $h^2=0.451$. Una posible razón de esta discrepancia es el hecho de que las condiciones de evaluación y material genético fueron diferentes. Wessel-Beaver y Scott (1992) registraron estimaciones de h^2 de 0.65 y 0.81 para el rendimiento de la misma población de jitomate cultivada en Puerto Rico y Florida, respectivamente, lo que ilustra la importancia del ambiente de evaluación. Sin embargo, la heredabilidad en sentido amplio coincide con los reportes de Haydar *et al.* (2007), y el mismo Dordevic *et al.* (2010), que calcularon una H^2 de 0.9767 y 0.9888, respectivamente.

c) Correlación entre rendimientos observados y predichos

El promedio de 100 estimaciones del coeficiente de correlación, entre el rendimiento observado en campo y el rendimiento predicho mediante el BLUP, para las 40-*n* cruzas simples, fluctuó entre 0.446 y 0.778. Con 1000 repeticiones los valores fluctuaron entre 0.454 y 0.770 (Cuadro 7). El coeficiente de correlación se incrementó al aumentar el número de híbridos predictores (*n*) utilizados. La menor amplitud (diferencia entre el valor más bajo y el más alto) observada en 100 y 1000 repeticiones, ocurrió con 20 (*n*) híbridos predictores, con esta base, al reducirse o incrementarse *n* la amplitud aumentó. Esto es debido a que se estimaron algunos valores extremos, sobre todo negativos (Figura 2). Al utilizar 5 y 10 híbridos predictores, los coeficientes de correlación no fueron homogéneos ($P \leq 0.01$), pero con $n \geq 15$ sí, tanto con 100 como con 1000 repeticiones. Para este estudio en particular se puede considerar que 20 híbridos predictores fueron suficientes para obtener predicciones aceptables, ya que la amplitud fue menor y más allá de este número las correlaciones no aumentan sustancialmente.

CUADRO 7. 100 y 1000 estimaciones del coeficiente de correlación (*r*) entre 40-*n* rendimientos predictores y predichos (con *n* híbridos predictores) de híbridos de jitomate.

Núm. de híbridos predictores (<i>n</i>)	100 estimaciones				1000 estimaciones			
	Mín.	Máx.	Amplitud	Media	Mín.	Máx.	Amplitud	Media
5	-0.207	0.807	1.014	0.446 ^{**}	-0.280	0.831	1.111	0.454 ^{**}
10	-0.062	0.857	0.919	0.608 ^{**}	-0.428	0.852	1.280	0.605 ^{**}
15	0.387	0.878	0.491	0.694 ^{NS}	0.079	0.929	0.850	0.690 ^{NS}
20	0.487	0.914	0.426	0.733 ^{NS}	0.215	0.922	0.707	0.730 ^{NS}
25	0.477	0.939	0.463	0.755 ^{NS}	0.177	0.943	0.766	0.753 ^{NS}
30	0.439	0.958	0.519	0.774 ^{NS}	0.130	0.973	0.843	0.778 ^{NS}
35	-0.368	0.991	1.359	0.778 ^{NS}	-0.945	0.998	1.943	0.770 ^{NS}

^{NS}, ^{**}: No significativo y significativo, respectivamente, de acuerdo con la prueba de χ^2 para homogeneidad de coeficientes de correlación (Steel y Torrie, 1985) con una $P \leq 0.01$; Mín=valor más bajo de *r*; Máx=valor más alto de *r*.

Las correlaciones obtenidas en este estudio, en lo general, coinciden con las reportadas por Bernardo (1994). Este autor utilizó RFLP's (amplificación inespecífica del polimorfismo del ADN) en maíz (r desde 0.695 hasta 0.800) y con 10 híbridos predictores tampoco obtuvo coeficientes de correlación homogéneos ($P \leq 0.05$).

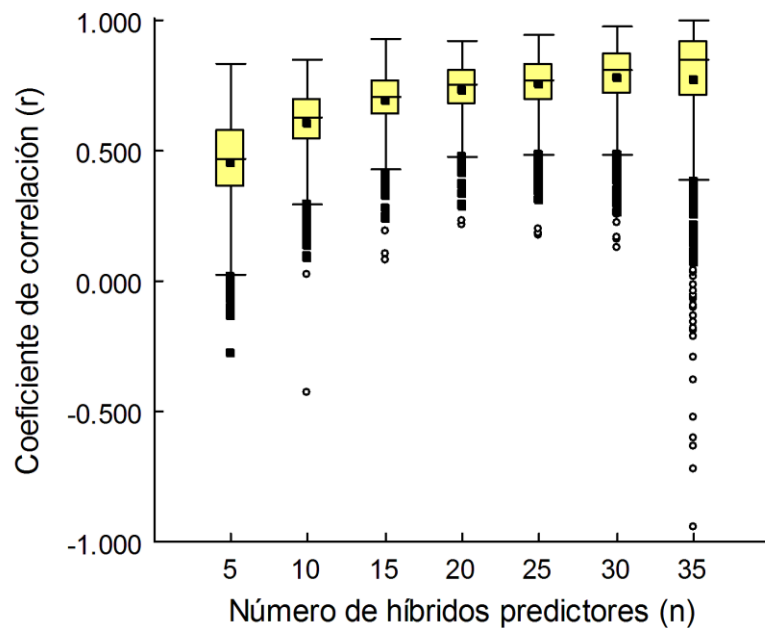


FIGURA 2. Representación gráfica de 1000 coeficientes de correlación entre 40- n rendimientos predichos (estimados con n híbridos predictores) y observados, en híbridos de jitomate.

Las altas correlaciones obtenidas, sugieren que el método utilizado para predecir el rendimiento de los híbridos es prometedor. Sin embargo, la extrapolación debe hacerse con reservas ya que la correlación entre híbridos predictores y predichos aumenta conforme se incrementa el número de híbridos predictores, pero hasta cierto nivel, después de éste se corre el riesgo de tener valores de r más pequeños e incluso negativos. Además, los resultados expuestos son de un conjunto relativamente pequeño de cruza simples. Bernardo (1996) aplicó esta metodología en una escala mayor (16

combinaciones de 9 grupos heteróticos en maíz), y las correlaciones entre rendimientos predichos y observados fueron ligeramente más bajas, desde 0.426 hasta 0.762.

El rendimiento de las 567 cruzas simples posibles entre 21 líneas del grupo X y 27 líneas del grupo Y que no se hicieron, fue predicho con el método del mejor predictor lineal e insesgado. Únicamente 25 % de las cruzas (143) mostraron un rendimiento predicho superior a la media de los híbridos observados ($2.33 \text{ kg/planta}^{-1}$). Las 5 cruzas de mayor rendimiento fueron 4x64, 3x75, 3x64, 4x75 y 3x54, con rendimientos de 2.558, 2.550, 2.549, 2.545 y $2.545 \text{ kg/planta}^{-1}$, respectivamente.

El Cuadro 8 muestra el promedio de los rendimientos predichos de las 21 (X) y 27 (Y) líneas de jitomate. Sólo 14 % de las líneas del grupo X (3), tiene un rendimiento de fruto superior a la media estimada por el BLUP. Estos genotipos son las líneas 3, 4 y 61 con 2.41, 2.39 y $2.35 \text{ kg/planta}^{-1}$, respectivamente. En el grupo Y, 7 líneas (26 %) superaron la media, el mayor rendimiento lo registraron la 64, 11 y 54 (2.41 2.37 y $2.37 \text{ kg/planta}^{-1}$). Estos resultados, sugieren que hay líneas que tienen potencial genotécnico para participar como progenitores de híbridos sobresalientes, o en su defecto pueden ser usadas como base genética para un ciclo avanzado de selección, con miras a obtener mejores líneas endocriadas.

CUADRO 8. Promedio de los rendimientos predichos de los híbridos en que participa cada una de las líneas de los grupos heteróticos X (21) y Y (27).

Líneas Grupo X	Rendimiento promedio kg/planta^{-1}	Líneas Grupo Y	Rendimiento promedio kg/planta^{-1}
L3	2.412	L64	2.413
L4	2.389	L11	2.373
L61	2.346	L54	2.368
L70	2.326	L20	2.363
L74	2.298	L75	2.352
L85	2.265	L31	2.341
L78	2.265	L55	2.339

L79	2.260	L57	2.309
L6	2.257	L32	2.299
L90	2.255	L22	2.289
L86	2.254	L41	2.273
L38	2.252	L12	2.267
L59	2.225	L33	2.260
L48	2.192	L21	2.254
L84	2.177	L53	2.245
L36	2.177	L7	2.241
L46	2.174	L34	2.240
L40	2.170	L15	2.209
L49	2.144	L30	2.182
L37	2.136	L29	2.148
L1	2.089	L63	2.142
		L8	2.141
		L16	2.130
		L23	2.129
		L27	2.117
		L13	2.063
		L17	2.023

Conclusiones

La caracterización genotípica de 92 líneas homocigóticas de jitomate, y su asignación a cuatro grupos heteróticos, se hizo con 17 iniciadores ISSR a través de 107 bandas polimórficas.

La predicción del rendimiento de híbridos en jitomate se realizó con el método del mejor predictor lineal e insesgado (BLUP) que relacionó información fenotípica e información genotípica, obtenida del ensayo de rendimiento en campo de 40 híbridos F_1 y los coeficientes de coancestría de las líneas involucradas, estimados con marcadores moleculares. Los coeficientes de correlación entre rendimientos observados y predichos fluctuaron entre 0.446 y 0.778, valores que permiten afirmar que el método es bueno y de utilidad genotécnica.

La ecuación generada para predicción de rendimiento de híbridos de jitomate permitió pronosticar el rendimiento de 567 cruzas no realizadas. Esta herramienta posibilitó tomar decisiones objetivas sobre qué cruzas se deberían realizar y evaluar, así como las líneas a considerar en un ensayo dialélico o como fuente de germoplasma para un siguiente ciclo de selección.

LITERATURA CITADA

- AGUILERA, J. G.; PESSONI, L. A.; RODRIGUEZ, G. B.; ELSAYED, A. Y.; DA SILVA, D. J. H.; DE BARROS, E. G. 2011. Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicon* Mill.). Rev. Bras. Cienc. Agrár. 6(2): 243-252.
- BERNARDO, R. 1993. Estimation of coefficient of coancestry using molecular markers in maize. Theor. Appl. Genet. 85: 1055-1062.
- BERNARDO, R. 1994. Prediction of maize single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids. Crop Sci. 34: 20-25.
- BERNARDO, R. 1995. Genetic models for predicting maize single-cross performance in unbalanced yield trial data. Crop Sci. 35: 141-147.
- BERNARDO, R. 1996. Best linear unbiased prediction of maize single-cross performance. Crop Sci. 36: 50-56.
- BOJINOV, B. M.; DANAILOV, ZH. P. 2009. Applicability of ISSRs for genotype in a tomato breeding collection. Acta Hort. 830: 63-70
- CADAHIA, C. 2000. Fertirrigación, cultivos hortícolas y ornamentales. 2da. Edición. Ediciones Mundi-prensa. Madrid, España. 475 p.
- DORDEVIC, R.; ZECEVIC, B.; ZDRAVKOVIC, J.; ZIVANOVIC, T.; TODOROVIC, G. 2010. Inheritance of yield components in tomato. Genetika 42(3): 575-583.
- DUARTE, J. M.; DOS SANTOS, J. B.; CUNHA MELO, L. 1999. Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. Genetics and Molecular Biology 22(3): 427-432.
- EATHINGTON, S. R.; CROSBIE, T. M.; EDWARDS, M. D.; REITER, R. S.; BULL, J. K. 2007. Molecular markers in a commercial breeding program. Crop Sci. 47(S3): S154-S163.
- FIRA. 2010. Oportunidades de Negocio en Agricultura Protegida, Boletín

informativo Núm 7. Morelia, Michoacan, México. 98 p.

- GUPTA, P. K.; VARSHNEY, R. K. 2000. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113: 163-185.
- HAYDAR, A.; MANDAL, M. A.; AHMED, M. B.; HANNAN, M. M.; KARIM, R.; RAZVY, M. A.; ROY, U. K.; SALAHIN, M. 2007. Studies on genetic variability and interrelationship among the different traits in tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Middle-East Journal of Scientific Research* 2(3-4):139-142.
- HENDERSON, C. R. 1985. Best linear unbiased prediction of nonadditive genetic merits in noninbred populations. *Journal of Animal Science* 60(1): 111-117.
- KHATTREE, R.; NAIK, D. N. 2000. Multivariate Data Reduction and Discrimination with SAS Software. SAS Institute Inc. Cary, N.C., U.S.A.
- KOCHIEVA, E. Z.; RYZHOVA, N. N.; KHRAPALOVA, I. A.; PUKHALSKIY, V. A. 2002. Genetic diversity and phylogenetic relationships in the genus *Lycopersicon* (Tourn.) Mill. as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis. *Russian Journal of Genetics* 38: 958-966.
- LINDHOUT, P. 2005. Genetics and breeding, pp 21-52. *In: Tomatoes*. HEUVELINK, E. (Ed.). CAB International. USA.
- MELCHINGER, A. E. 1988. Means, variances, and covariances between relatives in hybrid populations with disequilibrium in the parent populations, pp. 400-415. *In: Proc. 2nd Int. Conf. Quantit. Genet.* Raleigh, NC. 31 may-5 june 1987. WEIR, B. S.; EISEN, E. J. (Ed.). Sinauer Assoc. Sunderland, MA.
- MELCHINGER, A. E.; GUMBER, R. K. 1998. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. Pp 29-44. *In: Concepts and Breeding of Heterosis in Crop Plants*. LAMKEY, K. R.; STAUB, J. E. (Ed.). CSSA, Madison, WI.

- MUKANDAMA, J. P.; PETEIRA, B.; GONZÁLEZ, M. C. 2004. El empleo de marcadores RAPDs para el análisis de la variabilidad genética en genotipos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Cultivos Tropicales 25(3): 63-66.
- NUEZ-VIÑALS, F. 2001. Desarrollo de nuevos cultivares, pp. 625-669 *In*: El Cultivo del Tomate. NUEZ, F. (Ed.). Mundi-Prensa. Madrid, España.
- PRATTA, G.; VALLE, E. M.; ZORZOLI, R.; PICARDI, L. A. 2001. Caracterización de genotipos de tomate (*Lycopersicon* spp.) a través de AFLP (amplified fragment length polymorphism). IV Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. Redbio. 4-8 de junio. Goian.
- PRADEEP-REDDY, M.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica 128: 9-17.
- SAHAGÚN C., J. 2007. Estadística Descriptiva y Probabilidad: Una Perspectiva Biológica. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 282 p.
- SÁNCHEZ-ABARCA, C.; VALADEZ-MOCTEZUMA, E.; CARBALLO-CARBALLO, A.; CASTILLO-GONZÁLEZ, F. 2003. Diferenciación de dos líneas de tomate y su híbrido con marcadores moleculares. Revista Fitotecnia Mexicana 26(1): 67-72.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. 1985. Bioestadística: Principios y Procedimientos. MARTÍNEZ B., R. (Td.). McGraw-Hill. Bogotá, Colombia. 622 p.
- TIKUNOV, Y. M.; KHRUSTALEVA, L. I.; KARLOV, G. I. 2003. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. Euphytica 131: 71-80.
- VALADEZ-MOCTEZUMA, E.; KAHL, G. 2005. Huellas de ADN en Genomas de Plantas (Teoría y protocolos de laboratorio). Mundi-prensa México, S. A. de C. V. Distrito Federal, México. 147 p.
- VALADEZ L., A. 1989. Producción de Hortalizas. Ed. Limusa S. A. de C. V.

México. 298 p.

WESSEL-BEAVER, L.; SCOTT, J. W. 1992. Genetic variability of fruit set, fruit weight, and yield in a tomato population grown in two high-temperature environments. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117(5): 867-870.

ANEXOS

ANEXO 1. Rendimientos predichos de 567 híbridos de jitomate, mediante el método BLUP y marcadores moleculares ISSR.

Híbrido			Híbrido			Híbrido		
Grupo X	Grupo Y	Rendimiento kg/planta ⁻¹	Grupo X	Grupo Y	Rendimiento kg/planta ⁻¹	Grupo X	Grupo Y	Rendimiento kg/planta ⁻¹
L4	L64	2.558	L38	L22	2.299	L48	L7	2.181
L3	L75	2.550	L48	L31	2.298	L61	L13	2.181
L3	L64	2.549	L74	L34	2.298	L49	L21	2.180
L4	L75	2.545	L79	L41	2.298	L36	L33	2.179
L3	L54	2.527	L90	L22	2.296	L1	L75	2.179
L3	L11	2.519	L4	L8	2.295	L46	L33	2.176
L4	L11	2.512	L4	L30	2.295	L84	L34	2.176
L4	L55	2.511	L86	L22	2.292	L84	L33	2.175
L4	L54	2.511	L1	L64	2.292	L78	L8	2.175
L3	L55	2.504	L6	L41	2.292	L1	L22	2.175
L61	L64	2.502	L48	L75	2.292	L85	L8	2.175
L74	L64	2.501	L74	L15	2.291	L36	L34	2.175
L3	L32	2.495	L59	L32	2.291	L74	L16	2.173
L3	L20	2.494	L59	L57	2.289	L1	L57	2.173
L4	L20	2.492	L3	L63	2.289	L46	L34	2.172
L3	L31	2.488	L70	L15	2.289	L40	L33	2.172
L3	L33	2.480	L70	L30	2.288	L86	L63	2.170
L61	L75	2.478	L48	L55	2.288	L59	L29	2.168
L61	L11	2.477	L38	L41	2.288	L40	L34	2.168
L4	L41	2.472	L49	L11	2.288	L49	L53	2.168
L4	L31	2.472	L3	L29	2.288	L90	L63	2.167
L3	L41	2.470	L3	L13	2.288	L90	L29	2.166
L4	L32	2.466	L59	L55	2.288	L36	L7	2.166
L4	L33	2.462	L49	L54	2.287	L85	L29	2.165
L61	L20	2.460	L84	L31	2.285	L78	L29	2.165
L70	L64	2.460	L36	L31	2.285	L90	L8	2.165
L61	L55	2.455	L79	L33	2.285	L86	L29	2.164
L3	L57	2.453	L49	L20	2.285	L79	L29	2.163
L61	L54	2.452	L85	L12	2.284	L46	L7	2.162
L74	L75	2.450	L4	L23	2.283	L6	L29	2.162
L70	L11	2.443	L79	L12	2.283	L1	L12	2.162
L3	L7	2.443	L74	L53	2.283	L78	L23	2.162
L74	L54	2.437	L46	L31	2.283	L78	L27	2.162
L70	L54	2.437	L78	L12	2.282	L85	L23	2.162
L74	L55	2.436	L37	L11	2.282	L85	L27	2.161
L61	L31	2.435	L61	L27	2.282	L84	L7	2.161

L70	L75	2.435	L37	L20	2.282	L79	L8	2.161
L4	L57	2.432	L86	L33	2.281	L78	L16	2.161
L4	L7	2.432	L85	L33	2.281	L85	L16	2.160
L74	L11	2.431	L6	L12	2.281	L86	L16	2.160
L79	L64	2.429	L74	L21	2.280	L74	L29	2.159
L85	L64	2.428	L36	L55	2.280	L78	L63	2.159
L78	L64	2.427	L78	L33	2.280	L37	L41	2.159
L6	L64	2.424	L36	L75	2.280	L38	L8	2.159
L70	L20	2.424	L40	L31	2.279	L48	L15	2.159
L74	L20	2.420	L37	L54	2.279	L85	L63	2.158
L38	L64	2.418	L90	L41	2.279	L6	L8	2.158
L3	L34	2.418	L6	L33	2.278	L37	L21	2.158
L86	L64	2.418	L46	L55	2.278	L40	L7	2.158
L70	L31	2.413	L46	L75	2.277	L6	L63	2.156
L3	L22	2.411	L86	L21	2.277	L90	L16	2.155
L90	L64	2.410	L38	L12	2.275	L79	L63	2.155
L61	L32	2.409	L40	L55	2.274	L38	L29	2.154
L4	L22	2.408	L86	L41	2.273	L79	L16	2.154
L3	L21	2.403	L40	L75	2.273	L37	L53	2.153
L61	L57	2.403	L84	L75	2.272	L59	L15	2.152
L70	L55	2.402	L90	L12	2.272	L86	L8	2.152
L61	L41	2.400	L78	L21	2.271	L6	L16	2.151
L3	L53	2.396	L85	L21	2.270	L90	L23	2.150
L70	L32	2.395	L84	L55	2.269	L49	L34	2.150
L86	L11	2.394	L48	L57	2.269	L79	L23	2.149
L74	L31	2.393	L78	L7	2.268	L38	L23	2.147
L78	L11	2.391	L61	L30	2.268	L38	L63	2.146
L85	L11	2.389	L90	L21	2.268	L6	L23	2.146
L3	L12	2.389	L79	L21	2.268	L49	L41	2.145
L61	L33	2.389	L85	L7	2.268	L79	L27	2.145
L4	L34	2.388	L86	L12	2.268	L49	L33	2.144
L79	L54	2.388	L61	L16	2.267	L36	L15	2.144
L79	L11	2.387	L85	L53	2.266	L38	L27	2.142
L74	L41	2.387	L6	L21	2.266	L38	L16	2.141
L85	L54	2.384	L38	L33	2.265	L59	L16	2.141
L3	L15	2.384	L90	L33	2.265	L46	L15	2.140
L6	L54	2.384	L59	L21	2.265	L6	L27	2.140
L86	L20	2.383	L78	L53	2.265	L90	L27	2.140
L70	L57	2.383	L61	L8	2.263	L86	L23	2.138
L78	L54	2.383	L79	L7	2.263	L84	L15	2.137
L6	L11	2.382	L79	L53	2.263	L48	L30	2.137
L4	L12	2.381	L6	L53	2.262	L4	L17	2.136
L90	L11	2.380	L70	L16	2.261	L1	L32	2.136
L4	L15	2.379	L79	L34	2.261	L40	L15	2.136
L78	L20	2.379	L85	L34	2.260	L37	L34	2.135

L38	L11	2.378	L90	L53	2.260	L70	L17	2.134
L85	L20	2.378	L78	L34	2.259	L37	L33	2.133
L86	L54	2.377	L38	L21	2.259	L61	L17	2.128
L79	L20	2.376	L6	L7	2.258	L84	L30	2.128
L61	L7	2.375	L49	L31	2.258	L1	L21	2.125
L79	L75	2.374	L6	L34	2.258	L74	L63	2.124
L38	L54	2.373	L86	L7	2.257	L86	L27	2.124
L85	L75	2.373	L59	L22	2.257	L49	L7	2.120
L78	L75	2.373	L84	L57	2.255	L59	L8	2.119
L90	L54	2.372	L38	L53	2.254	L37	L7	2.119
L61	L22	2.371	L36	L57	2.254	L1	L53	2.116
L6	L20	2.371	L86	L34	2.253	L36	L30	2.113
L48	L64	2.370	L48	L22	2.253	L48	L29	2.111
L4	L21	2.370	L38	L7	2.253	L46	L30	2.110
L86	L75	2.369	L86	L53	2.252	L40	L30	2.106
L59	L64	2.368	L78	L15	2.252	L49	L30	2.105
L90	L20	2.368	L90	L7	2.252	L48	L63	2.104
L38	L20	2.368	L90	L34	2.251	L84	L29	2.103
L6	L75	2.368	L85	L15	2.251	L59	L23	2.103
L36	L64	2.365	L46	L57	2.251	L84	L63	2.100
L74	L32	2.365	L37	L31	2.251	L90	L13	2.094
L46	L64	2.363	L61	L23	2.248	L37	L15	2.094
L4	L53	2.362	L40	L57	2.248	L85	L13	2.093
L85	L55	2.362	L38	L34	2.247	L78	L13	2.093
L78	L55	2.362	L70	L63	2.246	L1	L41	2.093
L40	L64	2.361	L36	L22	2.244	L36	L29	2.093
L78	L31	2.361	L1	L20	2.244	L59	L13	2.091
L85	L31	2.360	L4	L29	2.243	L48	L8	2.090
L3	L16	2.360	L48	L32	2.243	L46	L29	2.090
L38	L75	2.359	L37	L55	2.242	L1	L34	2.090
L70	L33	2.358	L46	L22	2.242	L86	L13	2.088
L79	L55	2.358	L59	L53	2.242	L40	L29	2.087
L79	L31	2.357	L1	L11	2.241	L79	L13	2.087
L59	L11	2.356	L59	L12	2.240	L6	L13	2.086
L86	L31	2.356	L40	L22	2.239	L49	L29	2.085
L90	L75	2.355	L84	L22	2.239	L49	L63	2.085
L74	L57	2.355	L49	L75	2.238	L74	L13	2.083
L84	L64	2.354	L1	L54	2.237	L48	L23	2.080
L6	L31	2.354	L37	L75	2.237	L36	L63	2.079
L74	L33	2.353	L70	L8	2.235	L46	L63	2.077
L6	L55	2.353	L38	L15	2.235	L49	L15	2.076
L3	L30	2.352	L59	L33	2.234	L38	L13	2.075
L3	L27	2.352	L70	L29	2.233	L1	L33	2.074
L90	L31	2.352	L90	L15	2.233	L84	L8	2.074
L74	L22	2.350	L48	L12	2.233	L40	L63	2.073

L38	L55	2.350	L49	L55	2.231	L37	L30	2.072
L38	L31	2.349	L79	L15	2.230	L36	L8	2.071
L59	L54	2.348	L59	L34	2.230	L46	L8	2.068
L70	L41	2.347	L84	L32	2.228	L48	L16	2.066
L86	L55	2.347	L6	L15	2.227	L40	L8	2.063
L61	L15	2.345	L36	L32	2.226	L84	L23	2.063
L59	L20	2.344	L36	L12	2.226	L36	L23	2.063
L90	L55	2.343	L4	L63	2.225	L78	L17	2.062
L61	L21	2.343	L70	L27	2.224	L90	L17	2.062
L70	L22	2.341	L46	L12	2.224	L85	L17	2.062
L4	L27	2.340	L46	L32	2.223	L59	L27	2.060
L70	L21	2.339	L74	L27	2.222	L46	L23	2.059
L37	L64	2.337	L40	L12	2.221	L1	L7	2.059
L78	L57	2.336	L84	L12	2.220	L37	L29	2.059
L85	L57	2.336	L40	L32	2.219	L40	L23	2.055
L61	L34	2.335	L49	L57	2.218	L84	L16	2.050
L61	L12	2.335	L4	L13	2.218	L48	L27	2.049
L70	L7	2.332	L61	L29	2.218	L38	L17	2.045
L74	L7	2.330	L70	L23	2.217	L6	L17	2.043
L74	L12	2.328	L37	L57	2.216	L37	L63	2.043
L49	L64	2.328	L37	L22	2.215	L79	L17	2.041
L48	L11	2.328	L61	L63	2.215	L36	L16	2.039
L70	L34	2.327	L48	L41	2.214	L1	L30	2.038
L90	L57	2.327	L48	L21	2.211	L46	L16	2.035
L59	L31	2.327	L1	L31	2.210	L59	L17	2.034
L79	L57	2.326	L59	L30	2.210	L86	L17	2.033
L70	L53	2.324	L59	L41	2.210	L1	L29	2.031
L6	L57	2.324	L49	L22	2.210	L36	L27	2.030
L38	L57	2.323	L86	L15	2.207	L1	L15	2.030
L48	L54	2.323	L59	L7	2.206	L40	L16	2.030
L61	L53	2.322	L90	L30	2.206	L74	L17	2.029
L48	L20	2.322	L36	L41	2.204	L49	L8	2.027
L79	L32	2.321	L48	L53	2.204	L46	L27	2.026
L3	L8	2.320	L78	L30	2.203	L84	L27	2.024
L86	L32	2.320	L85	L30	2.203	L37	L8	2.024
L85	L32	2.318	L86	L30	2.203	L1	L63	2.020
L78	L32	2.318	L49	L32	2.202	L40	L27	2.020
L70	L12	2.317	L84	L21	2.202	L49	L23	2.018
L6	L32	2.316	L46	L41	2.201	L37	L23	2.017
L36	L11	2.316	L70	L13	2.200	L49	L16	2.013
L84	L11	2.315	L79	L30	2.199	L48	L13	2.003
L86	L57	2.315	L6	L30	2.199	L84	L13	1.991
L59	L75	2.314	L37	L12	2.199	L37	L16	1.983
L46	L11	2.313	L49	L12	2.197	L48	L17	1.980
L36	L54	2.312	L40	L41	2.197	L36	L13	1.974

L36	L20	2.312	L74	L8	2.195	L1	L8	1.970
L40	L11	2.310	L48	L33	2.195	L37	L27	1.970
L46	L54	2.310	L36	L21	2.194	L46	L13	1.970
L46	L20	2.310	L84	L53	2.193	L84	L17	1.969
L84	L20	2.310	L3	L17	2.192	L40	L13	1.964
L84	L54	2.309	L84	L41	2.191	L1	L23	1.964
L4	L16	2.309	L46	L21	2.191	L49	L27	1.959
L90	L32	2.308	L59	L63	2.190	L49	L13	1.957
L85	L22	2.308	L48	L34	2.190	L36	L17	1.954
L78	L22	2.308	L74	L30	2.190	L46	L17	1.950
L40	L54	2.307	L74	L23	2.190	L40	L17	1.946
L40	L20	2.307	L38	L30	2.189	L1	L16	1.930
L38	L32	2.304	L36	L53	2.189	L49	L17	1.923
L3	L23	2.304	L40	L21	2.188	L37	L13	1.918
L79	L22	2.303	L1	L55	2.188	L37	L17	1.904
L85	L41	2.303	L46	L53	2.186	L1	L27	1.893
L78	L41	2.302	L37	L32	2.184	L1	L13	1.871
L6	L22	2.300	L40	L53	2.183	L1	L17	1.861
