



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA



**ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A VIRUS EN TOMATE DE
CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.)**

TESIS

**Que como requisito parcial
para obtener el grado de**

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta

MARIA DEL ROCIO MONSERRAT TUXTLA ANDRADE

**Bajo la supervisión de:
DR. AURELIANO PEÑA LOMELÍ**

Mayo, 2021

Chapingo, Estado de México



ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A VIRUS EN TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.)

Tesis realizada por **María del Rocío Monserrat Tuxtla Andrade** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

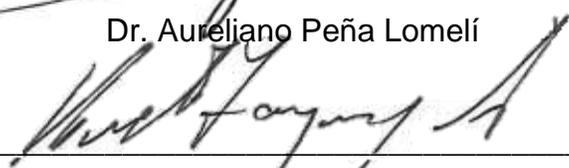
DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Director: _____



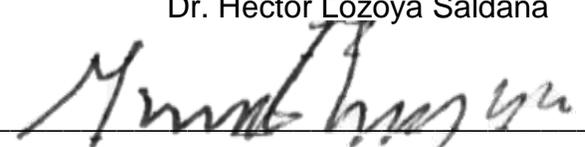
Dr. Aureliano Peña Lomelí

Asesor: _____



Dr. Héctor Lozoya Saldaña

Asesor: _____



Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

Asesor: _____



Dra. Margarita Gisela Peña Ortega

Lector externo: _____



Dr. Natanael Magaña Lira

Mayo de 2021

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
DATOS BIOGRÁFICOS	viii
RESUMEN GENERAL	ix
GENERAL ABSTRACT	x
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Objetivos	3
1.2 Hipótesis	3
CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Origen y distribución del tomate de cáscara	4
2.2 Importancia del cultivo	4
2.3 Autoincompatibilidad en tomate de cáscara.....	5
2.4 Mejoramiento genético de tomate de cascara	5
2.5 Heterosis.....	6
2.6 Marcadores moleculares.....	7
2.7 Marcadores moleculares ISSR	8
2.8 Marcadores en tomate de cáscara.....	8
2.9 Literatura citada	9
CAPÍTULO 3. COMPATIBILIDAD DE CRUZAS ENTRE POBLACIONES SILVESTRES Y CULTIVADAS DE TOMATE DE CÁSCARA.....	12

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
3.1 Introducción	14
3.2 Materiales y métodos	17
3.3 Resultados y discusión	21
3.4 Conclusiones	30
3.5 Literatura citada	30
CAPÍTULO 4. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE TOMATE DE CÁSCARA (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot. ex Horm.).....	33
RESUMEN	33
ABSTRACT	33
4.1 Introducción	34
4.2 Materiales y métodos	37
4.3 Análisis estadístico.....	42
4.4 Resultados y discusión	42
4.5 Conclusiones	47
4.6 Literatura citada	47

LISTA DE CUADROS

Cuadro 3.1. Identificación de cruzas realizadas entre seis progenitores de tomate de cáscara.....	18
Cuadro 3.2. Análisis de varianza con el método I de cruzas dialélicas de Griffing (1956) para seis caracteres evaluados en tomate de cáscara.....	21
Cuadro 3.3. Aptitud Combinatoria General (ACG) de seis progenitores para seis caracteres evaluados en tomate de cáscara.	22
Cuadro 3.4. Efecto Materno (EM) de seis progenitores para seis variables evaluadas en tomate de cáscara.....	23
Cuadro 3.5. Aptitud Combinatoria Específica (ACE) para seis variables evaluadas en tomate de cáscara.....	24
Cuadro 3.6. Heterosis respecto al progenitor medio (HPM) en tomate de cáscara.	25
Cuadro 3.7. Análisis de varianza para seis caracteres evaluados en tomate de cáscara.	26
Cuadro 3.8. Prueba de comparación de medias para el factor cruza en tomate de cáscara.....	27
Cuadro 3.9. Prueba de comparación de medias para el factor virus en tomate de cáscara.	28
Cuadro 4.1 Relación de poblaciones de tomate de cáscara usadas como material experimental.....	38
Cuadro 4.2 Componentes de la mezcla de reacción en cadena de la Taq ADN polimerasa (PCR) para la obtención de los patrones ISSR	41
Cuadro 4.3 Condiciones de temperatura de los ciclos de amplificación por PCR para la obtención de patrones ISSR.....	41
Cuadro 4.4 Productos de amplificación obtenidos con 11 iniciadores en 119 materiales de tomate de cáscara	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 3. 1. Tamaño de fruto de 24 cruzas de tomate de cáscara.....	29
Figura 4.1 Dendrograma de 119 poblaciones de tomate de cáscara (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot. ex Horm.)	45
Figura 4.2 Análisis de coordenadas principales para las 119 muestras de tomate de cascará (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot. ex Horm).....	46

DEDICATORIA

A Valeria, por todo el tiempo que hemos sacrificado juntas, gracias mi niña por iluminarme con la paz de tu sonrisa y por enseñarme a disfrutar la vida.

A mis padres, especialmente a mi madre Rocío Andrade Sósol por su amor y apoyo incondicional. Sin usted no hubiera llegado donde estoy.

A mis hermanos Adela y Luis, por ser mis fieles compañeros de vida y estar conmigo en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por haberme otorgado la beca que hizo posible lograr un grado más en mi formación profesional.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, maravillosa institución que me ha dado la oportunidad y las herramientas necesarias para crecer y desarrollarme personal y profesionalmente.

Al **Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia** por darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

A mi honorable comité asesor: **Dr. Aureliano Peña Lomelí, Dr. Héctor Lozoya Saldaña, Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, Dra. Margarita Gisela Peña Ortega y al Dr. Natanael Magaña Lira**, por haberme tenido la paciencia suficiente a lo largo de este tiempo que tardé en culminar este trabajo de investigación, por sus consejos y sobre todo por el apoyo incondicional que siempre me brindaron.

A mis amigos y colegas que son mi segunda familia, **José Luis, Ana Luisa, Arely, Cristian David, Betzabé, Rubí, Sandibel, Violeta, Karla y Cristian Zapata**.

Al personal técnico del invernadero, **Cesar y Omar**, amigos y colegas de trabajo.

A todos los profesores del Posgrado de Horticultura que contribuyeron en mi formación profesional.

A los alumnos de las carreras de Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia y Licenciatura en Agronomía en Horticultura Protegida, por su contribución con sus prácticas de campo.

De todo corazón, Gracias

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos Personales

Nombre: María del Rocío Monserrat Tuxtla Andrade

Fecha de nacimiento: 24 de octubre de 1988

Lugar de nacimiento: Huatusco, Veracruz

CURP: TUAR881024MVZXCN05

Profesión:

Ingeniero Agrónomo especialista en Parasitología Agrícola

Cédula 8065825

Maestro en Ciencias en Horticultura

Cédula 10643825

Desarrollo académico

Preparatoria: Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo

Licenciatura: Universidad Autónoma Chapingo

Maestría: Instituto de Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo

Doctorado: Instituto de Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo

RESUMEN GENERAL

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A VIRUS EN TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.)¹

El tomate de cáscara es de las principales hortalizas a nivel nacional. En este cultivo el manejo de las enfermedades de etiología viral representa uno de los retos más serios e importantes en el sistema de producción. Una opción para su manejo es el mejoramiento genético. El objetivo fue estudiar la herencia de la resistencia a virus de accesiones prometedoras de tomate de cáscara previamente seleccionadas y evaluadas. La investigación constó de dos trabajos. En el primero se planteó identificar la compatibilidad de cruza entre poblaciones silvestres resistentes a virus y cultivadas susceptibles, hacer un análisis dialélico de las mismas y estudiar su heterosis. Todas las cruza evaluadas mostraron compatibilidad y los efectos maternos fueron los más importantes, por lo que, en la incorporación de resistencia a virus es recomendable usar como hembra las poblaciones cultivadas, y como macho, las silvestres. También se encontraron estimaciones significativas de heterosis respecto al progenitor medio para rendimiento y tamaño de fruto. Las poblaciones silvestres y las cruza en las que participaron mantuvieron su rendimiento y tamaño de fruto aún en presencia de virus, lo que indica que es posible incorporar resistencia a partir de las poblaciones silvestres. En el segundo trabajo, mediante 11 iniciadores ISSR, se analizaron 119 muestras de tomate de cáscara para estimar la diversidad genética existente entre seis poblaciones silvestres tolerantes a virus, seis variedades mejoradas y susceptibles, así como poblaciones F₁ y F₂ de las cruza directas y recíprocas entre los progenitores silvestres y mejorados. La variabilidad molecular presente en las 119 poblaciones evaluadas se distribuyó en tres grupos: progenitores y cruza F₁; cruza F₁ y F₂, y las F₂ provenientes de variedades mejoradas susceptibles a virus.

Palabra clave: compatibilidad, análisis dialélico, heterosis, ISSR, variabilidad molecular.

¹Tesis de Doctorado en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo.
Autor: María del Rocío Monserrat Tuxtla Andrade. Director: Dr. Aureliano Peña Lomelí

GENERAL ABSTRACT

STUDY OF RESISTANCE TO VIRUSES IN HUSK TOMATO (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.)²

The husk tomato is one of the main horticultural crops nationwide. Handling viral diseases represent one of the most important production challenges for this crop. One option for virus management is crop breeding. The aim of this research was to study the inheritance of resistance to virus of wild husk tomatoes previously selected and evaluated. The research was divided in two stages. The first one, included the identification of crossing compatibility among wild populations resistant to viruses and cultivated susceptible ones followed by a diallelic analysis to study their heterosis. All the crosses evaluated showed compatibility and the maternal effects were the most important, so it is advisable to use the cultivated populations as females and the wild ones as males in the incorporation of resistance to the virus. Significant estimates of heterosis were also found regarding to the middle parent for yield and fruit size. The wild populations and the crosses in which they participated maintained their yield and fruit size even in the presence of viruses, which indicates that it is possible to incorporate resistance from wild populations. The second stage, using 11 ISSR primers, 119 husk tomato samples were analyzed to estimate the genetic diversity between six wild populations tolerant to viruses and six improved and susceptible varieties, as well as direct and reciprocal crosses between the 12 parents. The molecular variability present in the 119 evaluated populations was distributed in three groups: parents and F₁ crosses; crosses F₁ and F₂, and the F₂ from improved varieties susceptible to viruses.

Key word: compatibility, diallelic analysis, heterosis, ISSR, molecular variability

² Thesis, Ph. D. in Horticultural Sciences. Universidad Autónoma Chapingo.
Author: María del Rocío Monserrat Tuxtla Andrade. Advisor: Dr. Aureliano Peña Lomelí.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Existe una gran diversidad de tomate de cáscara en el mundo, donde se reportan de 80 a 120 especies de *Physalis* spp. Se indica que 70 de ellas se encuentran restringidas a México, por lo que considera que el territorio mexicano es el centro del origen y diversidad de taxón. De las 70 que se reportan en México, 20 se extienden a EUA y América Central. Además del número de especies, la alta riqueza genética de *Physalis* en México se manifiesta en la existencia de especies silvestres, toleradas, fomentadas, cultivadas y domesticadas, relacionadas con diferentes tipos de vegetación y condiciones ecológicas. (Peña y Santiaguillo, 1999).

Las especies de *Physalis* se encuentran distribuidos por toda la República Mexicana, en una gran diversidad de ambientes, por lo que se les puede encontrar desde el nivel del mar hasta los 3570 msnm. No obstante, la mayoría de las especies prevalecen en estado silvestre y al menos 19 se recolectan para consumo en varios estados de México (Santiaguillo *et al.*, 2012).

El tomate de cáscara se caracteriza por ser una especie alógama obligada, ya que presenta autoincompatibilidad gametofítica, lo cual dificulta su mejoramiento por métodos tradicionales (Peña y Márquez, 1990; Santiaguillo, Cedillo y Cuevas, 2010).

Las poblaciones heterogéneas de especies silvestres representan importantes fuentes de variación y son ampliamente usadas en los programas de mejoramiento genético (Terzopoulos y Bebeli, 2008). Por lo tanto, la descripción y evaluación del germoplasma es muy importante para la protección y utilización de los recursos fitogenéticos (Thul,

Darokar, Shasany y Khanuja, 2011). Sin embargo, a pesar del potencial de variabilidad genética que ofrecen las especies silvestres, la falta de información sobre características agronómicas y constitución genética ha limitado su uso. El análisis de la relación genética en cultivos es un pre-requisito en programas de mejoramiento de cultivos, ya que proporciona información sobre la variabilidad genética (Mohammadis y Prasanna, 2003). De otro modo, la falta de diversidad genética puede reducir el potencial de resistencia de sistemas de cultivos hacia enfermedades desconocidas o en evolución, patógenos y condiciones ambientales adversas.

Una de las limitaciones para el cultivo de tomate de cáscara son las enfermedades que lo atacan. Los daños causados por virus son de los principales factores que perjudican el rendimiento y la calidad de este cultivo (Martínez, 2000). Su importancia o impacto radica en que reducen la producción y calidad en los cultivos, por no contar con herramientas químicas para su combate o control y por lo difícil o caro que resulta el diagnóstico de estas enfermedades, por la mezcla de virus que se presentan en la naturaleza, así como por su facilidad de transmisión (Urías y Valenzuela, 1992).

Estudios realizados por De la Torre *et al.* (1998), llevados a cabo en los estados de Puebla, México y Morelos, en los cuales aislaron y caracterizaron virus en plantas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) lo que les permitió detectar varios virus presentes constituidos por un genoma de ARN de cadena sencilla, los virus que detectaron fueron el virus mosaico del pepino (CMV), virus jaspeado del tabaco (TEV), virus mosaico del tabaco (TMV) y el virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV), los análisis serológicos de ELISA indicaron que las infecciones por una mezcla con varios de estos virus están distribuidos en las zonas productoras de los estados antes mencionados.

Los trabajos de investigación para proteger a las plantas contra el ataque de los virus se han centrado en la interferencia del comportamiento del vector, el proceso de transmisión y la propagación del virus en el hospedero (Garzón, 1987; Martínez, 2000). El buscar fuentes de resistencia genética en la diversidad de germoplasma de tomate de cáscara presente en México es una posibilidad de atenuar el impacto de los virus en la producción de este cultivo. Con base en lo anterior, el Programa de Mejoramiento Genético de

Tomate de Cáscara de la Universidad Autónoma Chapingo tiene entre sus objetivos desarrollar poblaciones de tomate de cáscara con resistencia a virus. A la fecha se cuenta con accesiones silvestres que han mostrado resistencia a AMV, CMV, TEV, TMV y TSWV. Para utilizar este germoplasma como fuente de resistencia genética a virus, se requiere estudiar la compatibilidad de las cruza entre los materiales silvestres y los cultivados, hacer su caracterización molecular, y conocer el modo de herencia de la resistencia. Con el propósito de desarrollar una estrategia de mejoramiento de los materiales comerciales, que son susceptibles a virus, usando como donantes las variedades resistentes.

1.1 Objetivos

General

Estudiar la herencia de la resistencia o tolerancia a virus de accesiones prometedoras de tomate de cáscara previamente seleccionadas y evaluadas.

Específicos

Verificar la compatibilidad de cruza intervarietales entre poblaciones silvestres y cultivadas de tomate de cáscara.

Realizar la caracterización molecular de accesiones de tomate de cáscara que muestran tolerancia o resistencia a virus y poblaciones cultivadas susceptibles.

1.2 Hipótesis

Las poblaciones silvestres que muestran resistencia o tolerancia a virus son compatibles para cruzamiento con las poblaciones cultivadas.

La caracterización molecular de las poblaciones silvestres y cultivadas permitirá identificar variaciones genéticas útiles para el mejoramiento de la especie.

CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen y distribución del tomate de cáscara

El tomate se considera originario del continente americano, crece en forma silvestre en la vertiente del pacífico mexicano, desde la frontera con Estados Unidos hasta Guatemala y Nicaragua, razón por la cual México es su centro de origen y fuente primaria de germoplasma. El género *Physalis* se restringe principalmente a las regiones templadas de América, aunque se puede encontrar en todos los climas, hay algunas especies en el este de Asia, India, Australia, Europa y África tropical. (Martínez, 2000; Santiaguillo, Cedillo y Cuevas, 2010). De las especies de *Physalis* spp. que se cultivan para aprovechar sus frutos se citan principalmente *P. peruviana* en Perú, Haití, Costa Rica, algunas partes de Australia, Sur de África, India y Nueva Zelanda; *P. pruinosa* en América; y *P. ixocarpa* en México y Centro América. Otras especies aparecen como malezas en los cultivos, se utilizan como plantas ornamentales o se recolectan para el consumo humano (Pandey, 1957; Peña y Márquez, 1990).

2.2 Importancia del cultivo

En el año 2000 el tomate de cáscara se posicionó en el cuarto lugar respecto a superficie de hortalizas sembradas. Para el año 2020 ocupó el sexto lugar, con una superficie de 40,108.59 ha sembradas en 30 estados de la república mexicana. Los estados de Sinaloa, Jalisco, Zacatecas y Puebla son las entidades federativas con la mayor superficie sembrada. Lo mencionado anteriormente indica la importancia del cultivo a nivel nacional, ya que solo es superado en cuanto a superficie sembrada por el chile verde (*Capsicum annum* L.), elote (*Zea mays* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), cebolla (*Allium cepa* L.), y jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) (SIAP, 2021).

El consumo nacional per cápita es alto (3.5 kg), y sus exportaciones a los Estados Unidos de América y Canadá van en aumento (Santiaguillo *et al.*, 2012).

2.3 Autoincompatibilidad en tomate de cáscara

En el tomate de cáscara una característica importante es la autoincompatibilidad que predomina en el género *Physalis*. *P. ixocarpa* es una especie alógama obligada debido a que presenta autoincompatibilidad gametofítica (Pandey, 1957; Peña y Márquez, 1990; Mulato-Brito, Peña-Lomelí, Sahagún-Castellanos, Villanueva-Verduzco, C. y López-Reynoso, 2007). La autoincompatibilidad es la incapacidad de una planta con flores hermafroditas para producir semillas mediante su autopolinización, aunque estén presentes gametos viables (Ávila y Cruz, 2011). Para Pérez *et al.* (1997) existen dos tipos de autoincompatibilidad. La primera ocurre cuando los sistemas heteromórficos se caracterizan por las diferencias morfológicas de las flores de diferentes plantas, además del tamaño del polen y de las células estigmáticas. El segundo caso ocurre en un sistema homomórfico, donde la incompatibilidad puede estar determinada por el genotipo de la planta a la que pertenece (esporofito), o por la composición del propio polen (gametofito). La alogamia es un tipo de reproducción sexual basado en la polinización cruzada y la fecundación entre individuos genéticamente diferentes, que se desarrolla a través de mecanismos como la autoincompatibilidad. Su importancia radica en la generación continua de variación genética en la población (Richards, 1986).

2.4 Mejoramiento genético de tomate de cascara

Aunque existe una amplia variabilidad genética en el tomate de cáscara (Santiaguillo, Cervantes y Peña, 2004), el mejoramiento genético de las especies de tomate es limitado y el rendimiento promedio nacional es de $19.45 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (SIAP, 2021), lo cual se considera bajo, según el rendimiento potencial de $40 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (Peña y Santiaguillo, 1999).

En el año de 1985 se creó el programa de mejoramiento genético de tomate de cáscara en la Universidad Autónoma Chapingo, del que se han registrado en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales 16 variedades mejoradas obtenidas por selección (Peña y Márquez, 1990; Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas [SNICS],

2020). En los últimos años, específicamente desde el año 2015, se ha venido trabajando con accesiones silvestres tolerantes a virus que atacan al cultivo, con el propósito de incorporar la resistencia en las variedades de tomate de cáscara cultivadas, que han resultado susceptibles a los virus (López, 2015; Tuxtla, 2016).

2.5 Heterosis

La heterosis se manifiesta por los organismos cruzados al compararse con los organismos endogámicos correspondientes como resultados específicos de la disimilitud en la constitución de los gametos paternos y se explica como el mayor vigor, tamaño, fructificación, velocidad de desarrollo, resistencia a plagas o enfermedades, o a regiones climáticas de cualquier clase (Márquez, 1988).

Hay dos teorías para explicar la heterosis: la primera atribuye la heterosis al efecto de sobredominancia, y la segunda, a efectos de dominancia. En la primera, el vigor híbrido aumenta en proporción directa a la cantidad de heterocigosis, así el heterocigoto es mejor que cualquiera de los dos homocigotos (Magaña, 2019). En la hipótesis de la dominancia se determina que el grado de heterosis depende del número de loci con al menos un alelo dominante (Márquez, 1988). Li *et al.* (2001) y Luo *et al.* (2001) mostraron preferencia por la teoría de la sobredominancia, mientras que Crow (1999) apoyó la teoría de la dominancia, dejando de lado la teoría de la sobredominancia que propuso en 1952 (Magaña, 2019).

Existen algunos reportes sobre la importancia de la heterosis en tomate de cáscara, que indican que es posible obtener mejores variedades por hibridación, no obstante que ésta es difícil en tomate debido a la autoincompatibilidad. Al respecto, Peña *et al.* (1998) reportan heterosis respecto al mejor progenitor de 14.29 % en rendimiento, para cruces intervarietales. Por otro lado, Santiaguillo *et al.* (2004) encontraron heterosis para rendimiento hasta de 40.6 % en cruces planta a planta de las variedades CHF1 Chapingo y Verde Puebla. Por su parte, Sahagún *et al.* (1999) reportan heterosis de -42.1 a 138.7 % en el primer corte de híbridos interpoblacionales precoces. Magaña (2019) encontró heterosis de 26.9 % en rendimiento total para híbridos entre familias élite de medios hermanos maternos.

2.6 Marcadores moleculares

Los marcadores genéticos se dividen en dos tipos: los morfológicos y los moleculares. La caracterización e identificación tradicional de variedades por lo regular se ha basado en el uso de características agronómicas y morfológicas. (Azofeifa-Delgado, 2006). Sin embargo, dado que la expresión de estos marcadores en plantas puede verse afectada por factores ambientales o fenológicos, su uso en plantas tiene muchas limitaciones. Generalmente, estos marcadores solo pueden evaluarse a nivel de toda la planta y en la etapa adulta. Además, pueden suceder cambios epigenéticos, lo que limita el número de marcadores que puedan ser evaluados sin equivocación en la población segregante. Los métodos tradicionales de caracterización e identificación molecular se han visto superados con el avance de la biología molecular y el desarrollo de métodos basados en marcadores moleculares (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

Los marcadores moleculares basados en ADN se definen como fragmentos específicos de ADN que muestran polimorfismos que pueden ubicarse en regiones codificantes o no codificantes y revelan la aparición de cambios genéticos entre dos o más individuos (Picca, Helguera, Salomón, y Carrera, 2004; Azofeifa-Delgado, 2006) y que idealmente son representativos a nivel del genoma completo. Para su aplicación, el ADN extraído puede ser digerido por enzimas específicas o amplificado utilizando iniciadores definidos, o combinando ambos procedimientos. Los resultados se muestran como un patrón de bandas en un gel. Los marcadores moleculares se han utilizado principalmente para estudios de diversidad genética, en algunos casos también se utilizan en el cultivo de plantas *in vitro* para estudiar la estabilidad genética (Araújo, Prabhu, Filippi y Chaves, 2001).

Los marcadores moleculares pueden ser útiles indicadores para distintas aplicaciones, por lo cual surge el interés de encontrar correlaciones entre marcadores moleculares y características fenotípicas en diferentes especies cultivadas (Cobaleda *et al.*, 2013).

Un marcador es un carácter o un gen que se puede usar para indicar la presencia de otro gen debido al ligamiento. Es decir, cualquier rasgo A relacionado con la presencia o

expresión del rasgo B puede considerarse un marcador, porque la existencia de A necesariamente implica la de B (Alcántara, 2007).

2.7 Marcadores moleculares ISSR

Para Gouveia, Gonçalves, Benedito y De Sequeira (2014) las regiones entre secuencias simples repetidas (Inter Simple Sequence Repeats, ISSR) son un tipo de marcador genético con los que se pueden obtener los niveles de variación en las regiones microsatélite dispersas en varios genomas (especialmente en genomas nucleares). Estas regiones consisten en repeticiones en tandem de secuencias simples como (CT) n ó (CA) n , ubicadas entre secuencias no repetitivas del genoma nuclear de células eucariotas. Las secuencias repetidas, también llamados SSRs (repetición de secuencia simple), pueden ser di, tri, tetra o penta-nucleótidos. Los ISSRs son marcadores amplificados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con la presencia de oligonucleótidos o primer complementarios a microsatélites, diseñados para unirse a di y tri-nucleótidos.

2.8 Marcadores en tomate de cáscara

Existen pocos estudios sobre el uso de marcadores moleculares en *Physalis*. Entre ellos se encuentra el estudio con marcadores ISSR realizado por Vargas-Ponce, Pérez-Álvarez, Zamora-Tavares, y Rodríguez (2011), donde identificaron seis iniciadores ISSR que generaron 101 bandas, con 100 % de polimorfismo. El número de bandas por iniciador varió de 10 a 21 y así confirmaron el valor ISSR en discriminación taxonómica. En otro estudio realizado por Carstensen (2014) se identificaron 22 iniciadores ISSR en tomate de cáscara, los cuales generaron un total de 208 bandas amplificadas, de las cuales 83 % mostraron polimorfismo, con un promedio de ocho bandas polimórficas por iniciador, lo que los hace propicios para una buena discriminación entre genotipos y obtener patrones para la caracterización molecular.

2.9 Literatura citada

- Alcántara, M. R. (2007). Breve revisión de los marcadores moleculares. *In*: L. E. Eguiarte, V. Souza, & X. Aguirre (comp.), *Ecología molecular* (pp. 541-566). México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología; Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Araújo, L. G., Prabhu, A. S., Filippi, M. C., & Chaves, L. J. (2001). RAPD analysis of blast resistant somaclones from upland rice cultivar IAC 47 for genetic divergence. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 67(2), 165–172. doi: 10.1023/a:1011960225472
- Ávila C., B. A. & Cruz G., F. (2011). Sistema de incompatibilidad gametofítico en plantas: una oportunidad para evitar la endogamia. Universidad Nacional Autónoma de México. *Mensaje Bioquímico*, 35: 67-78.
- Azofeifa-Delgado, Á. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2): 221-242. doi: 10.15517/am.v17i2.5163
- Carstensen B, K. (2014). Caracterización molecular y criopreservación de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex. Horm.). Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología. Universidad Autónoma Chapingo, México. 105 p.
- Cobaleda V., M., Reyes M., A., Barriada B. G., Medina M., J. R., Torres R., R., Delgado A., E. A. & Almaraz A., N. (2013). Una mirada general al tomate de cáscara (*Physalis*). *Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Durango*, 5(2), 90-99.
- Crow, J. F. (1999). Dominance and Overdominance. *In*: J. G. Coors, & S. Pandey, *Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops* (pp. 49-58). USA: John Wiley & Sons, Ltd. doi: 10.2134/1999.geneticsandexploitation.c5
- De La Torre-Almaráz R., Velarde R., Méndez-Lozano J., Ascencio-Ibañez J. T., & Rivera-Bustamante R. F. (2002). Caracterización preliminar de un geminivirus en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* B.) en la región centro de México. *Agrociencia*, 36: 471-481. <https://agrociencia-colpos.mx/index.php/agrociencia/article/view/200/200>
- Ferreira, M. E., Fernández, J. N., & Grattapaglia, D. (1998). Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Federal District, Brazil: Embrapa.
- Garzón T., J. A. (1987). Alternativas para el control de virus en hortalizas. Enfermedades virales y viroidales en cultivos de importancia en México, memoria. SARH-INIFAP Celaya, Gto. México. p. 64.
- Gouveia, M., Gonçalves, F., Benedito, M., & Sequeira, M. (2014). Intra-population genetic variability of *Normania triphylla* (Lowe) Lowe (Solanaceae) based on ISSR markers. *Silva Lusitana*, 22, 165-173.
- Li, Z.-K., Luo, L. J., Mei, H. W., Wang, D. L., Shu, Q. Y., Tabien, R., Zhong, D. B., Ying, C. S., Stansel, J. W., Khush, G. S., & Paterson, A. H. (2001). Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis

- in rice. I. Biomass and grain yield. *Genetics*, 158(4), 1737-1753. doi: 10.1093/genetics/158.4.1737
- López S., C. (2015). Resistencia a virus en germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis spp.*). Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. México. 56 p.
- Luo, L. J., Li, Z.-K., Mei, H. W., Shu, Q. Y., Tabien, R., Zhong, D. B., Ying, C. S., Stansel, J. W., Khush, G. S., & Paterson, A. H. (2001). Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. II. Grain yield components. *Genetics*, 158(4), 1755-1771. doi: 10.1093/genetics/158.4.1755
- Magaña, L. N. (2019). Endogamia y heterosis en cuatro poblaciones de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm). Tesis de Doctorado en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. México. 100 p. doi: 10.13140/RG.2.2.21944.29447
- Márquez S. F. (1988). Genotecnia Vegetal Tomo II. México, D. F.: AGT Editor S. A..
- Martínez R., A. (2000). Estrategias para el combate de virosis en tomate de cascara (*Physalis ixocarpa*, Brot.) en Chapingo, México. Tesis. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. México. 63 p.
- Mohammadis, A., & Prasanna, B. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants. *Crop Sci*, 43, 1235-1248. doi: 10.2135/cropsci2003.1235
- Mulato-Brito, J., Peña-Lomelí, A., Sahagún-Castellanos, J., Villanueva-Verduzco, C., & López-Reynoso J.J. (2007). Self-compatibility inheritance in tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Vegetable Crops Research Bulletin*, 67, 17.
- Pandey, K.K. (1957). Genetics of self incompatibility in *Physalis ixocarpa* Brot: a new system. *American Journal of Botany*, 44: 879-887.
- Peña L., A., & Márquez S., F. (1990). Mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo* 71/72, 85-88.
- Peña L., A.; Molina G., J. D.; Cervantes S., T.; Márquez S., F.; Sahagún C., J. & Ortiz C., J. (1998). Heterosis intervarietal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarp* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 4(1): 31-37. doi: 10.5154/r.rchsh.1997.12.093
- Peña L., A., & Santiaguillo H., F. (1999). *Variabilidad genética de tomate de cáscara en México*. Boletín Técnico #2. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 26 p.
- Pérez-Grajales, M., Márquez-Sánchez, F., & Peña-Lomelí, A. (1998). *Mejoramiento genético de hortalizas*. Ciudad de México, México: Mundi Prensa. 380 p.
- Picca, A., Helguera, M., Salomón, N., & Carrera, A. (2004). Marcadores moleculares. In: Echenique, V., Rubinstein, C., & Mroginsky L. *Biotecnología y mejoramiento vegetal* (pp. 61-68). Buenos Aires, Argentina: INTA.
- Richards, A.J. (1986). Plant breeding systems. London: George Allen Publishers. 529 p.

- Sahagún C., J., Gómez R., F., & Peña L., A. (1999). Efectos de aptitud combinatoria en poblaciones de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5(1), 23-27. doi 10.5154/r.rchsh.1998.07.050
- Santiagoullo H. J. F., Vargas P. O., Grimaldo J. O., Magaña L.N., Caro V. F. J., Peña L. A., & Sánchez M. J. (2012). *Diagnóstico del tomate de cáscara*. México: Gráficos Prometeo Editores. Universidad Autónoma Chapingo. 46 p.
- Santiagoullo H., J. F., Cedillo P., E., & Cuevas S., J. A. (2010). Distribución geográfica de *Physalis* spp. en México. México: Prometeo Editores S.A. de C. V. 245 p.
- Santiagoullo H., J. F., Vargas P, O., Grimaldo J., O., Magaña L., N., Caro V., F.J., Peña L., A., & Sánchez M., J. (2012). *Diagnóstico del tomate de cáscara*. México: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas-Universidad Autónoma Chapingo. 46 p.
- Santiagoullo H., J. F., Cervantes S., T., & Peña L., A. (2004) Selección para rendimiento y calidad de fruto de cruza planta x planta entre variedades de tomate de cáscara. *Fitotecnia Mexicana*. 27: 85-91.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2021). Cierre de la producción agrícola. Consultado 21-05-2021 en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). (2020). Consultado 21-10-2020 en <https://www.gob.mx/snics/articulos/catalogo-nacional-de-variedades-vegetales-en-linea>
- Terzopoulos, P. J. & Bebeli, P. J. (2008). DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae*, 116(4), 354–361. doi: 10.1016/j.scienta.2008.02.010
- Tuxtla A., M. R. M. (2015). Evaluación de germoplasma de tomate de cáscara para resistencia a virosis. Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. México. 56 p.
- Thul, S. T., Darokar, M. P., Shasany, A. K., & Khanuja, S. P. S. (2011). Molecular profiling for genetic variability in *Capsicum species* based on ISSR and RAPD markers. *Molecular Biotechnology*, 51(2), 137–147. doi: 10.1007/s12033-011-9446-y
- Urías M., C. & Valenzuela. U., J. G. (1992). Importancia de las enfermedades virales en la producción agrícola en México. In: URIAS M., C., RODRIGUEZ M., R., ALEJANDRE A., T. (eds). *Áfidos como vectores de virus en México*. Vol. I. (p. 8) Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Montecillos. México..
- Vargas-Ponce, O., Pérez-Álvarez, L. F., Zamora-Tavares, P., & Rodríguez, A. (2011). Assessing genetic diversity in Mexican husk tomato species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29(3), 733-738.

CAPÍTULO 3. COMPATIBILIDAD DE CRUZAS ENTRE POBLACIONES SILVESTRES Y CULTIVADAS DE TOMATE DE CÁSCARA

RESUMEN

En la actualidad las enfermedades de origen viral presentan un reto para el campo mexicano, ya que hasta el momento no existe forma de erradicar los virus por su difícil forma de controlarlos. En el cultivo de tomate de cáscara las pérdidas de rendimiento por enfermedades virosas puede ser hasta del 80 %. Una opción ante esta problemática es el mejoramiento genético, dentro del cual se encuentra la incorporación de tolerancia o resistencia al ataque de los virus. El objetivo fue determinar la compatibilidad de cruzas entre poblaciones silvestres resistentes a virus y cultivadas susceptibles, hacer un análisis dialéctico de las mismas y estudiar su heterosis. Se hizo un diseño de cruzas dialécticas entre poblaciones silvestres y cultivadas, mismas que fueron evaluadas en campo con y sin inoculación de una mezcla de los cinco virus que atacan al cultivo (AMV, CMV, TEV, TMV y TSWV). Todas las cruzas evaluadas mostraron compatibilidad, lo que indica que las poblaciones son de la misma especie. Los efectos maternos fueron los más importantes, por lo que es recomendable usar como hembra las poblaciones cultivadas y como macho las silvestres en la incorporación de resistencia a virus. De las poblaciones silvestres, el progenitor 5 (170 BNGEN) es el más apropiado para incorporar resistencia de virus a variedades cultivadas. Se encontraron estimaciones significativas de heterosis respecto al progenitor medio para rendimiento y tamaño de fruto, por lo que los efectos no aditivos son importantes en la determinación de estas características. Las poblaciones silvestres y las cruzas en las que participaron mantuvieron su rendimiento y tamaño de fruto aún en presencia de virus, lo que indica que es posible incorporar resistencia a partir de las poblaciones silvestres.

Palabra clave: compatibilidad, heterosis, mejoramiento genético, resistencia.

COMPATIBILITY OF CROSSES AMONG WILD AND CULTIVATED POPULATIONS OF HUSK TOMATO

ABSTRACT

Currently, diseases of viral origin present a challenge for the Mexican agriculture, since until now there is no way to eradicate viruses due to their difficult way of controlling them. In husk tomato cultivation, yield losses due to virus diseases can be up to 80 %. One option in the face of this problem is plant breeding, within which is the incorporation of tolerance or resistance to the attack of viruses. The aim was to determine the compatibility of crosses between wild populations resistant to viruses and cultivated susceptible ones, to make a diallelic analysis of them and to study their heterosis. A design of diallelic crosses was made between wild and cultivated populations, which were evaluated in the field with and without inoculation of a mixture of the five viruses that attack the crop (AMV, CMV, TEV, TMV y TSWV). All the crosses evaluated showed compatibility, which indicates that the populations are of the same species. The maternal effects were the most important, so it is advisable to use cultivated populations as female and wild populations as male in the incorporation of virus resistance. Of the wild populations, parent 5 (170 BNGEN) is the most appropriate for incorporating virus resistance into cultivated varieties. Significant estimates of heterosis were found with respect to the mean parent for yield and fruit size, so non-additive effects are important in determining these characteristics. The wild populations and the crosses in which they participated maintained their yield and fruit size even in the presence of viruses, which indicates that it is possible to incorporate resistance from wild populations.

Index Words: compatibility, heterosis, plant breeding, resistance.

3.1 Introducción

El género *Physalis* comprende de 80 a 100 especies en el mundo, de las cuales setenta se encuentran en México. El territorio mexicano se considera centro de origen, distribución y domesticación (Peña y Santiaguillo, 1999). En México se reconocen ocho razas de tomate de cáscara (Silvestre, Milpero, Arandas, Tamazula, Manzano, Rendidora, Salamanca y Puebla) que están distribuidas a lo largo del territorio nacional en altitudes que van desde los 8 a los 3350 msnm (Ayala *et al.*, 1992).

Dentro de los factores que demeritan el rendimiento y calidad del cultivo se encuentran las enfermedades. Las causadas por virus fitopatógenos tienen un impacto sustancial en la productividad del tomate de cáscara, en la mayoría de las zonas productoras de México (Apodaca *et al.*, 2008). La importancia de estudiar los virus se ha intensificado debido a que los materiales cultivados de tomate de cáscara son altamente susceptibles al complejo viral predominante, lo que causa reducción de hasta un 80 % en la producción. Los virus tienen la habilidad de infectar a la planta en forma local y sistémica. En esta última el virus entra a la célula, se replica y luego se mueve hacia el floema hasta colonizar toda o gran parte de la planta. Debido a esta problemática fitosanitaria, es importante estudiar la compatibilidad de cruza de materiales silvestres que son resistentes a virus con materiales susceptibles pero que poseen características de gran interés comercial. En estudios previos realizados en la Universidad Autónoma Chapingo, con accesiones del banco de germoplasma de tomate de cáscara, se han identificado seis accesiones cuyo comportamiento fue aceptable para la resistencia al virus mosaico del tabaco (TMV), virus mosaico del pepino (CMV), virus mosaico de la alfalfa (AMV), virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) y virus jaspeado del tabaco (TEV) (Moncayo-Pérez *et al.*, 2020).

En tomate de cáscara una característica importante es la autoincompatibilidad que predomina en el género *Physalis*. En particular, *Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm. es una planta alógama obligada debido a la autoincompatibilidad gametofítica (Peña y Márquez, 1990). Al respecto, Mulato-Brito *et al.* (2007) y Lu (2014) estudiaron genes de compatibilidad, modo de transmisión y la posible implicación en procesos selectivos que pueden contribuir a enriquecer aspectos de interés para el tomate de cáscara. Se

encontró que el gen de la autoincompatibilidad se encuentra en los cromosomas y no se hereda vía citoplasmática.

Las limitaciones de incompatibilidad sexual y de fertilidad entre plantas de la misma especie y especies relacionadas evolutivamente se ven obstaculizadas al no existir restricciones en la transferencia de genes, lo cual permite el uso de genes de diferentes especies, géneros o reinos (Vasil, 2007).

Según Ortuño-Olea *et al.* (1998), en especies como en el tomate de cáscara, que es autoincompatible, puede aumentarse el rendimiento de los híbridos intervarietales si estos se forman entre dos plantas de dos variedades que no presenten endogamia. Esto se obtiene por la mayor aptitud combinatoria específica entre algunas plantas y se expresa en alta heterosis. De hecho, Santiaguillo, Cervantes y Peña (2004) encontraron heterosis hasta de 40.6 % en cruza planta a planta de las variedades CHF1 Chapingo y Verde Puebla.

La heterosis es el resultado específico de la disimilitud en la constitución de los gametos de los padres, que es interpretada como el mayor tamaño, vigor, fructificación, resistencia a enfermedades y a plagas, o a regiones climáticas de cualquier clase, manifestado por los organismos cruzados al compararse con los organismos endogámicos correspondientes (Márquez, 1988). Por lo tanto, se considera esencial para incrementar la productividad de los cultivos, y en consecuencia satisfacer las necesidades alimenticias del mundo, dado el éxito que ha tenido el aprovechamiento de la heterosis en la agricultura (Duvick, 1999).

Para Márquez (1988) existen dos teorías para explicar la heterosis: la primera atribuye la heterosis a efectos de sobredominancia, y la segunda, a efectos de dominancia. Según la hipótesis de la sobredominancia, el heterocigoto es superior a cualquiera de los dos homocigotos, por lo que el vigor híbrido aumenta en proporción directa a la cantidad de heterocigosis. En la hipótesis de la dominancia se establece que el grado de heterosis depende del número de *loci* con al menos un alelo dominante.

La generación de una población híbrida que combine las características fenotípicas que se desean tener de ambos padres en una sola planta. El establecimiento e implementación de un plan convencional de mejoramiento genético para la resistencia o tolerancia a enfermedades requiere transmisión o transferencia de genes entre las dos poblaciones que tienen sus propias características fenotípicas (Castillo y Goodman, 1997).

Según Allard y Montoya (1978) un sistema de cruce dialélico se define como el total de cruzamientos entre un grupo de progenitores. Griffing (1956) dice que en el sistema de cruzamientos dialélicos se escoge una serie de p progenitores y se hacen cruces entre ellos. En los análisis de Griffing normalmente se analizan datos de F1 para estudiar aptitud combinatoria general y específica, pero los de las F2 y generaciones segregantes también pueden ser utilizados para estimar componentes de varianza (Christie y Shattuck, 1992).

La polinización manual es una es una técnica necesaria para realizar la transferencia de genes de una población a otra de la misma especie y hacer diverso tipo de cruces para garantizar los resultados deseados en programas de mejoramiento genético (Pérez-Grajales, Márquez-Sánchez, Peña-Lomelí, 1998). En tomate de cáscara la técnica de polinización manual ha sido establecida con precisión por Peña-Lomelí *et al.* (2018), lo que hace posible realizar cruces intervarietales y retrocruces recurrentes para transferir genes de una población a otra, siempre y cuando la cruce entre éstas sea compatible.

En diversos trabajos se han identificado poblaciones silvestres de tomate de cáscara resistentes o tolerantes a virus, en contraste con las cultivadas que son susceptibles (Moncayo-Pérez *et al.*, 2020). Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la compatibilidad de cruces entre poblaciones silvestres y cultivadas de tomate de cáscara, hacer un análisis dialélico de las mismas y estudiar su heterosis, con el propósito de que las silvestres puedan ser incorporadas a un programa de mejoramiento genético como fuentes de resistencia a virus.

3.2 Materiales y métodos

Este estudio se dividió en dos fases. La primera fase consistió en realizar las cruzas manuales entre las poblaciones silvestres y cultivadas. Se realizó en el invernadero # 25, perteneciente a la Academia de Genética del Departamento de Fitotecnia, ubicado en el campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo. La segunda fase consistió en la evaluación de las cruzas, las cuales se establecieron en el lote X-3 del campo experimental de la misma universidad, ubicado en la Carretera México-Texcoco Km 38.5, en Texcoco, Estado de México, en las coordenadas geográficas 19°49' LN y 98°87' LW y a una altitud de 2,250 metros sobre el nivel del mar.

Los progenitores estudiados (Cuadro 3.1) fueron las poblaciones silvestres 7 (167 BNGEN), 9 (170 BNGEN), 17 (48 BNGEN) y las variedades cultivadas Ámbar MT (A), Jade TFG (J) y Zafiro MSM (Z), registradas en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales por la Universidad Autónoma Chapingo (SNICS, 2020). Las poblaciones silvestres fueron seleccionadas por su resistencia a virus, mientras que las cultivadas son variedades susceptibles, pero de interés comercial (Moncayo-Pérez *et al.*, 2020).

La primera fase se llevó a cabo en invernadero, en el ciclo otoño invierno de 2016. Se realizaron cruzas directas y recíprocas entre las accesiones silvestres y poblaciones cultivadas de acuerdo con el método I de cruzas dialélicas de Griffing (1956), excepto las cruzas dentro de variedades cultivadas y dentro de poblaciones silvestres. Se obtuvo un total de 24 cruzas (Cuadro 1) de los cuales seis pertenecen a cruzas fraternales de los progenitores y 18 corresponden a cruzas directas y recíprocas entre progenitores silvestres y cultivados. Se utilizó la técnica de polinización controlada en tomate de cáscara descrita por Santiaguillo, Cervantes y Peña (2004) y Peña-Lomelí *et al.*, (2018). Las flores polinizadas manualmente fueron debidamente marcadas y los frutos fueron cosechados por separado para verificar la presencia de semilla.

En la segunda fase de la investigación se sembraron las 24 cruzas en invernadero en el ciclo primavera verano de 2017. La semilla de cada cruce se estableció en charolas de poliestireno y se manejaron como lo describe Moncayo-Pérez *et al.* (2020).

Cuadro 3.1. Identificación de cruzas realizadas entre seis progenitores de tomate de cáscara.

Cruza	Descripción	i	j	Dialelo
1	Ámbar MT	1	1	1
2	(Ámbar MT x 167 BNGEN)	1	4	2
3	(Ámbar MT x 170 BNGEN)	1	5	3
4	(Ámbar MT x 48 BNGEN)	1	6	4
5	Jade TFG	2	2	5
6	(Jade TFG x 167 BNGEN)	2	4	6
7	(Jade TFG x 170 BNGEN)	2	5	7
8	(Jade TFG x 48 BNGEN)	2	6	8
9	Zafiro MSM	3	3	9
10	(Zafiro MSM x 167 BNGEN)	3	4	10
11	(Zafiro MSM x 170 BNGEN)	3	5	11
12	(Zafiro MSM x 48 BNGEN)	3	6	12
13	(167 BNGEN x Ámbar MT)	4	1	2
14	(167 BNGEN x Jade TFG)	4	2	6
15	(167 BNGEN x Zafiro MSM)	4	3	10
16	167 BNGEN	4	4	13
17	(170 BNGEN x Ámbar MT)	5	1	3
18	(170 BNGEN x Jade TFG)	5	2	7
19	(170 BNGEN x Zafiro MSM)	5	3	11
20	170 BNGEN	5	5	14
21	(48 BNGEN x Ámbar MT)	6	1	4
22	(48 BNGEN x Jade TFG)	6	2	8
23	(48 BNGEN x Zafiro MSM)	6	3	12
24	48 BNGEN	6	6	15

i: progenitor femenino; j: progenitor masculino; BNGEN: Banco Nacional de Germoplasma de Especies Nativas de la Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México.

Para evaluar la resistencia de las cruzas se hizo una inoculación con una mezcla de los cinco principales virus que atacan al cultivo de tomate de cáscara, los cuales fueron: Virus mosaico de la alfalfa (AMV), Virus mosaico del pepino (CMV), Virus jaspeado del tabaco (TEV), Virus mosaico del tabaco (TMV) y Virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) más el testigo el cual fue inoculado con solución buffer.

La fuente de inóculo para AMV fue *Medicago sativa*; para CMV, *Solanum lycopersicum*; para TEV y TMV *Nicotiana tabacum* var. *Xanthi* y para TSWV, *Datura stramonium*. Para la obtención del extracto infectivo se utilizó la solución amortiguadora o buffer de

extracción base de fosfatos, con pH = 7, que fue elaborada previamente en el laboratorio de Virología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

La inoculación con la mezcla de virus se hizo 34 días después de la siembra, el 31 de marzo de 2017, cuando las plantas tenían un promedio de cinco hojas verdaderas. En cada planta se inoculó la tercera y cuarta hojas consideradas del ápice hacia la base. La inoculación fue mecánica provocando pequeñas lesiones con la ayuda de carborundum para después frotar con un hisopo bañado con solución vírica, misma que se obtuvo macerando 5 g de tejido vegetal (1 g de inóculo de cada virus) en 50 ml de solución amortiguadora.

A los 36 días después de la siembra, el 1 de abril de 2017, se realizó el trasplante en campo, en el lote experimental X-3 de la Universidad Autónoma Chapingo. Se usó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, donde se evaluaron las 24 cruzas con y sin inoculación de la mezcla de virus. Cada unidad experimental estuvo constituida por 22 plantas. El cultivo se condujo a campo abierto en un sistema de riego por goteo, como lo describen Peña *et al.* (2014).

Las variables respuesta fueron el rendimiento por planta (kg) en dos cortes (RP1 y RP2), así como tamaño de fruto que se estimó como peso (g) de diez frutos en cada corte (PF1 y PF2). Con los datos de los dos cortes se calculó el rendimiento total por planta (RTP) y el peso promedio de diez frutos (PPF).

Para estudiar la significancia de los efectos de aptitud combinatoria general (ACG), aptitud combinatoria específica (ACE), efectos maternos (EM) y efectos recíprocos (ER), se hizo el análisis de varianza con el modelo fijo del método I de Griffing (1956), mediante el programa desarrollado en el módulo IML del paquete Statistical Analysis System por Mastache y Martínez (2003), mismo que también fue utilizado para obtener los mejores predictores lineales insesgados (MPLI) empíricos de ACG, ACE, EM y ER, bajo el modelo:

$$\bar{Y}_{ij\bullet} = \mu + g_i + g_j + m_i - m_j + s_{ij} + r_{ij} + e_{ij\bullet}$$

Dónde:

$\bar{Y}_{ij\bullet}$ = media de la craza entre los progenitores i-ésimo y j-ésimo (i x j)

μ = efecto general, común a todas las observaciones

g_i y g_j = efecto de ACG del i-ésimo y el j-ésimo progenitor, respectivamente

m_i y m_j = efecto materno del i-ésimo y el j-ésimo progenitor, respectivamente

s_{ij} = efecto de ACE de la craza entre los progenitores i-ésimo y j-ésimo ($s_{ij} = s_{ji}$)

r_{ij} = efecto recíproco de la craza entre los progenitores i-ésimo y j-ésimo ($r_{ij} = -r_{ji}$)

$e_{ij\bullet}$ = error asociado a la craza i x j.

Finalmente, se estudiaron los efectos de la heterosis respecto al progenitor medio cuantificando el rendimiento de cada una de las cruzas realizadas utilizando la siguiente formula (Gardner y Eberhart, 1966).

$$h_{ij} = \bar{Y}_{ij\bullet} - \left(\frac{\bar{Y}_i + \bar{Y}_j}{2} \right)$$

Donde:

h_{ij} = Efecto de heterosis de la craza entre los progenitores i y j

$\bar{Y}_{ij\bullet}$ = Media de la craza entre los progenitores i y j

\bar{Y}_i = Media del i-ésimo progenitor

\bar{Y}_j = Media del j-ésimo progenitor

Para evaluar el efecto de la inoculación de los virus sobre cada una de las cruzas se realizó un análisis de varianza con base en el modelo correspondiente a un diseño de tratamientos factorial completo 24 x 2, con 24 niveles en el factor craza y dos niveles del factor virus (con y sin inoculación). También se hicieron pruebas de comparación de medias de Tukey con $P = 0.05$. Para los análisis se utilizó el programa estadístico SAS versión 9.3 (SAS, 2011).

3.3 Resultados y discusión

Todas las cruzas entre poblaciones silvestres y cultivadas fueron compatibles y produjeron semilla fértil, lo cual indica que ambas son de la misma especie (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.), aspecto que fue corroborado mediante identificación taxonómica. Por lo tanto, es posible incorporar genes de resistencia a virus de las poblaciones silvestres a las variedades mejoradas (Ámbar MT, Jade TFG y Zafiro MSM) por medio de retrocruza (Pérez *et al.*, 1998), lo cual representa un aporte significativo al diseño de nuevas estrategias de mejoramiento del cultivo.

En el análisis de varianza (Cuadro 3.2) se encontraron efectos altamente significativos ($p \leq 0.01$) de las cruzas sobre las seis variables evaluadas. Revisando detenidamente los resultados arrojados para las fuentes de variación, los efectos maternos (EM) son los más importantes, ya que son altamente significativos en todas las variables. Los efectos de aptitud combinatoria general (ACG) y aptitud combinatoria específica (ACE) fueron significativos ($p \leq 0.01$) sobre RP1, RTP, PF1, PF2 y PPF. Los efectos recíprocos solo mostraron significancia ($p \leq 0.05$) en la variable RTP. Se puede decir que el mayor peso del efecto de cruza se debe a EM, entonces las variables evaluadas están relacionadas con genes ubicados en el citoplasma.

Cuadro 3.2. Análisis de varianza con el método I de cruza dialélicas de Griffing (1956) para seis caracteres evaluados en tomate de cáscara.

FV	GL	RP1	RP2	RTP	PF1	PF2	PPF
BLOQUES	3	10473.1 *	2971.0	5652.6	2372.6	1605.7	1642.0
CRUZAS	23	42472.8 **	15642.0 **	76439.7 **	59567.1 **	29543.7 **	42411.3 **
ACG	5	63007.7 **	5247.5	96834.8 **	146512.7 **	68444.9 **	102326.9 **
ACE	15	36013.2 **	2919.0	34996.0 **	39515.5 **	19791.9 **	28389.5 **
EM	5	19201.3 **	51867.8 **	127072.5 **	6050.1 **	7157.1 **	5966.8 **
ER	10	2563.1	3040.5	11363.6 *	1449.6	461.5	814.9
ERROR	69	3591.1	4413.4	5434.0	1776.9	746.7	846.5
TOTAL	95						
CV		32.9	37.6	20.5	28.6	23.9	22.2

** y *: Significativo con $p \leq 0.01$ y $p \leq 0.05$, respectivamente. FV: fuente de variación; ACG: aptitud combinatoria general; ACE: aptitud combinatoria específica; EM: efecto materno; ER: efecto recíproco; CV: coeficiente de variación; GL: grados de libertad; RP1 y RP2: rendimiento por planta en el corte 1 y 2, respectivamente; RTP: rendimiento total por planta; PF1 y PF2: peso de 10 frutos en el corte 1 y 2, respectivamente; PPF: peso promedio de 10 frutos.

Para RP1 solo el progenitor cuatro (167 BNGEN) tuvo efecto de ACG ($p \leq 0.05$), el cual fue negativo (Cuadro 3.3), mientras que para RTP cuatro progenitores presentaron efecto de ACG significativo, los progenitores dos (Jade TFG) y tres (Zafiro MSM) con efecto positivo, y el cuatro y seis (48 BNGEN) con efecto negativo. Los efectos de los progenitores uno (Ámbar MT), dos, cuatro, cinco (170 BNGEN) y seis se vieron reflejados en las variables de tamaño de fruto (PF1, PF2 y PPF), comportándose de una forma similar ya que en las tres variables mencionadas los progenitores uno y dos tuvieron efecto positivo. Sin embargo, el cuatro, cinco y seis presentaron efectos negativos. Para este caso en particular, el efecto corresponde a características de origen de los progenitores, ya que el uno y dos son de fruto grande y muy grande respectivamente, mientras que los progenitores cuatro, cinco y seis son poblaciones silvestres y de fruto pequeño.

Cuadro 3.3. Aptitud Combinatoria General (ACG) de seis progenitores para seis caracteres evaluados en tomate de cáscara.

P	RP1	RP2	RTP	PF1	PF2	PPF
1	24.37	-0.21	34.81	86.15 *	43.50 *	64.93 *
2	24.91	6.22	48.20 *	77.05 *	64.25 *	70.80 *
3	28.05	4.98	48.82 *	22.96	16.44	19.61
4	-32.47 *	-4.28	-52.26 *	-60.89 *	-39.50 *	-50.21 *
5	-24.49	-0.16	-35.68	-61.33 *	-41.97 *	-51.72 *
6	-20.36	-6.52	-43.87 *	-63.86 *	-42.65 *	-53.35 *

*: Significativo con $p \leq 0.05$. P: progenitores; RP1 y RP2: rendimiento por planta en el corte 1 y 2, respectivamente (kg), RTP: rendimiento total por planta (kg); PF1 y PF2: peso de 10 frutos en el corte 1 y 2, respectivamente (g); PPF: peso promedio de 10 frutos (g).

El efecto materno (EM) está asociado a los genes del citoplasma y se estima para cada progenitor. Este efecto fue significativo con valor positivo en el progenitor uno para todas las variables, en el progenitor cinco el efecto fue negativo en las variables RP1, RTP y PF2, mientras que el progenitor seis presenta efecto negativo en RP2, PF1 y PPF (Cuadro 3.4). Cuando el EM es positivo, es deseable usar ese progenitor como hembra, al contrario de cuando es negativo. Por lo tanto, en un programa de incorporación de genes de resistencia a virus por retrocruza, es recomendable usar el progenitor uno siempre como hembra, y los progenitores cinco y seis siempre como macho.

Cuadro 3.4. Efecto Materno (EM) de seis progenitores para seis variables evaluadas en tomate de cáscara.

P	RP1	RP2	RTP	PF1	PF2	PPF
1	30.07 *	68.10 *	101.33 *	19.33 *	20.05 *	21.16 *
2	2.60	9.65	12.90	-1.89	7.65	2.31
3	6.29	-21.63	-14.74	-4.04	-2.88	-3.75
4	1.40	10.45	12.28	1.57	2.67	2.18
5	-26.63 *	-28.52	-58.20 *	-2.11	-17.47 *	-9.63
6	-13.73	-38.04 *	-53.56	-12.86 *	-10.03	-12.27 *

*: Significativo con $p \leq 0.05$. P: progenitores; RP1 y RP2: rendimiento por planta en el corte 1 y 2, respectivamente (kg), RTP: rendimiento total por planta (kg); PF1 y PF2: peso de 10 frutos en el corte 1 y 2, respectivamente (g); PPF: peso promedio de 10 frutos (g).

En el Cuadro 3.5 se observa que el progenitor 1 (dialelo 1) tuvo efectos de ACE significativos ($p \leq 0.05$) y positivos sobre RP1, RTP, PF1, PF2 y PPF. El dialelo 3 (1x5 y 5x1) tuvo efectos negativos sobre las variables RP1 y RTP, y el dialelo 4 (1x6 y 6x1) presenta también efectos negativos sobre RP1, RTP, PF1 y PPF. El progenitor 2 (dialelo 5) presenta efectos positivos en RP1, RTP, PF1, PF2 y PPF. En el dialelo 8 (2x6 y 6x2) se observan efectos negativos sobre RP1 y PF2. Para el dialelo 11 (3x5 y 5x3) presenta efectos positivos solo sobre la variable RTP y finalmente el progenitor 6 (dialelo 15) presenta efecto positivo en RP1, PF1 y PPF. Para Bernardo (2010) los efectos de ACE se relacionan con genes del núcleo y variación de tipo no aditiva. Las combinaciones de favorables de genes no aditivos son aquellos cuyo efecto de ACE es positivo, caso contrario a las combinaciones no deseables que son aquellas cuyo dialelos presentan efectos negativos. Debido a que se sólo se encontró efecto positivo de ACE en las cruza 3x5 y 5x3 (dialelo 11) en la variable RTP, se puede decir que en general las variables tienen un componente importante de efectos aditivos. El resto de los dialelos donde se encontraron efectos positivos significativos de ACE corresponden con los progenitores.

Cuadro 3.5. Aptitud Combinatoria Específica (ACE) para seis variables evaluadas en tomate de cáscara.

DIAL	RP1	RP2	RTP	PF1	PF2	PPF
1	153.32 *	-4.93	118.74 *	206.53 *	122.26 *	167.88 *
2	19.68	11.51	32.76	-36.57	-17.16	-27.19
3	-83.62 *	-13.96	-90.05 *	-69.69	-52.43	-61.76
4	-106.38 *	-17.49	-110.24 *	-93.42 *	-59.69	-77.47 *
5	114.93 *	6.42	82.88 *	177.83 *	153.87 *	169.08 *
6	-52.21	-16.10	-63.96	-74.92	-54.43	-65.54
7	48.42	22.26	59.79	-10.22	-26.26	-18.40
8	-86.26 *	32.06	-53.86	-76.70	-63.24 *	-71.91
9	72.62	-14.66	30.58	31.38	-1.29	15.70
10	0.04	-14.93	-13.09	-0.46	23.16	11.61
11	57.38	36.60	81.75 *	27.83	33.05	30.98
12	-40.42	20.01	-19.92	-10.58	-1.96	-6.10
13	-33.58	-3.11	-9.17	64.40	26.71	46.69
14	-32.98	-26.84	-33.49	33.99	22.43	29.03
15	108.96 *	-68.25	72.49	95.55 *	61.18	80.32 *

*: Significativo con $p \leq 0.05$. DIAL: dialelo; RP1 y RP2: rendimiento por planta en el corte 1 y 2, respectivamente (kg), RTP: rendimiento total por planta (kg); PF1 y PF2: peso de 10 frutos en el corte 1 y 2, respectivamente (g); PPF: peso promedio de 10 frutos (g).

Se estimó la heterosis respecto al progenitor medio (HPM) (Cuadro 3.6), donde se observa heterosis significativa ($p \leq 0.05$) positiva en RP2 para las cruzas 1x5 y 1x6, en RTP para las cruzas 1x5, 2x5 y 3x5. En PF2 solo la cruz 3x5 fue positiva. Por el contrario, la heterosis negativa se observó en nueve cruzas para la variable RP1. Para RP2 solo se observaron dos cruzas con heterosis significativa y negativa, que son 5x1 y 6x1. Para RTP fueron siete las cruzas con HPM negativa. Para las variables de tamaño de fruto, que son PF1, PF2 y PPF, se observaron 15, 13 y 14 cruzas respectivamente con HPM negativa. Cabe resaltar el hallazgo de un gran número de cruzas con HPM negativa para el tamaño de fruto, lo cual puede indicar que existe una variación no aditiva para esta característica (Peña-Lomelí *et al.*, 1998). Entre las cruzas que presentaron heterosis positiva para rendimiento destaca el progenitor 5 (población silvestre), lo cual indica que este es un material valioso para conferir resistencia a virus, debido a que en las cruzas con materiales cultivados tendería a conservar la media de estos en características de rendimiento.

Cuadro 3.6. Heterosis respecto al progenitor medio (HPM) en tomate de cáscara.

Cruza	RP1	RP2	RTP	PF1	PF2	PPF
1x4	-33.76	65.51	31.80	-174.63 *	-78.50 *	-126.56 *
1x5	-55.66	176.05 *	120.40 *	-137.50 *	-69.58 *	-103.54 *
1x6	-210.61 *	129.60 *	-80.98	-211.75 *	-128.00 *	-169.88 *
2x4	-87.11 *	0.36	-86.68	-203.75 *	-133.96 *	-168.85 *
2x5	39.69	65.09	104.79 *	-136.38 *	-99.88 *	-118.13 *
2x6	-236.43 *	64.83	-171.56 *	-223.38 *	-176.13 *	-201.25 *
3x4	3.08	-22.19	-19.13	-43.00	5.75	-18.63
3x5	69.29	55.76	125.08 *	-8.13	43.25 *	17.56
3x6	-138.40 *	69.60	-68.80	-85.38 *	-31.75	-58.56 *
4x1	-65.71	-34.46	-100.18 *	-194.38 *	-116.00 *	-155.19 *
4x2	-120.75 *	-31.34	-152.09 *	-213.50 *	-167.13 *	-190.31 *
4x3	-49.48	10.09	-39.38	-61.50 *	15.00	-23.25
5x1	-245.93 *	-128.66 *	-374.60 *	-252.00 *	-178.25 *	-215.13 *
5x2	-31.19	-0.14	-31.31	-113.88 *	-142.63 *	-128.25 *
5x3	9.21	58.94	68.15	-4.63	2.50	-1.06
6x1	-334.76 *	-91.40 *	-426.18 *	-309.25 *	-191.25 *	-250.50 *
6x2	-218.75 *	59.28	-159.41 *	-239.13 *	-190.38 *	-214.75 *
6x3	-166.38 *	53.33	-113.05 *	-73.88 *	-36.25 *	-55.06 *

*: Significativo con $p \leq 0.05$; RP1 y RP2: rendimiento por planta en el corte 1 y 2, respectivamente (kg), RTP: rendimiento total por planta (kg); PF1 y PF2: peso de 10 frutos en el corte 1 y 2, respectivamente (g); PPF: peso promedio de 10 frutos (g).

Los resultados del análisis de varianza (Cuadro 3.7) muestran que el factor cruza y virus presentan significancia ($p \leq 0.05$) en todas las variables, mientras que las interacciones de cruza por virus tuvieron significancia en las variables relacionadas con el tamaño de fruto (PF1, PF2, PPF). Los coeficientes de variación de las variables son relativamente altos, pero comparables con los valores reportados por López (2015; Comp. pers.³) en un trabajo anterior muy similar. Sin embargo, según Peña *et al.* (2008) esto se puede deber a la diversidad genética de las accesiones evaluadas, así como a la alogamia de la especie y a la variación interna dentro de cruzas. Esto implica que en una misma cruza puede haber individuos con diversos grados de tolerancia a los virus.

³López Sánchez C. (2015). Resistencia a virus en germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis* spp). Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 67 p.

Cuadro 3.7. Análisis de varianza para seis caracteres evaluados en tomate de cáscara.

FV	GL	RP1	RP2	RTP	PF1	PF2	PPF
BLO	3	4077.4	74.8	4652.8	3502.8	779.2	1001.8
CRUZA	23	59834.9 **	19864.9 **	104435.6 **	60225.7 **	33171.6 **	44765.0 **
VIR	1	114983.8 **	193330.6 **	606631.4 **	51596.4 **	67659.2 **	63389.0 **
CRUZA*VIR	23	15229.7	6518.2	23696.6	13966.0 **	4014.9 **	7742.9 **
Error	132	12221.0	5489.8	17589.3	5051.7	899.8	1680.4
TOTAL	182						
CV		71.3	51.5	44.4	54.1	31.5	36.6

** y *: Significativo con $p \leq 0.01$ y $p \leq 0.05$, respectivamente. FV: fuente de variación; ACG: aptitud combinatoria general; ACE: aptitud combinatoria específica; EM: efecto materno; ER: efecto recíproco; CV: coeficiente de variación; GL: grados de libertad; RP1 y RP2: rendimiento por planta en el corte 1 y 2, respectivamente, RTP: rendimiento total por planta; PF1 y PF2: peso de 10 frutos en el corte 1 y 2, respectivamente; PPF: peso promedio de 10 frutos.

La prueba de comparación de medias (Cuadro 3.8) muestra que las cruzas 1 y 5, que corresponden a progenitores cultivados susceptibles, son parte de los grupos superiores, esto debido a que ya son poblaciones seleccionadas por sus características de valor comercial, entre ellas el rendimiento (Peña *et al.*, 2002; Santiaguillo, Cervantes y Peña., 2004). En contraste, las cruzas 16, 20 y 24, que corresponden a los progenitores silvestres y tolerantes a virus, están dentro de los grupos medios debido a que, por ser silvestres, no presentan buen tamaño de fruto ni gran rendimiento por planta. La cruz 3 (1x5) se encuentran en el grupo superior en las variables RP2 y RTP, mientras que en las demás variables está en los grupos medios. Cabe mencionar la importancia de las cruzas 11 (3x5) y 22 (6x2), ya que son sobresalientes en la variable rendimiento por planta del segundo corte (RP2). Esta información es de mucha utilidad ya que se demuestra que las cruzas entre poblaciones susceptibles y tolerantes tuvieron un buen comportamiento y algunas de ellas un buen rendimiento.

En relación con el factor virus, como era de esperarse, en todas las variables tuvieron mayor expresión cuando las plantas no fueron inoculadas con virus (Cuadro 3.9). En particular, la inoculación con virus redujo 33.5 % el rendimiento total y 29.2 % el peso promedio de fruto. Lo anterior demuestra el impacto significativo del ataque de los virus en tomate de cáscara.

Cuadro 3.8. Prueba de comparación de medias para el factor cruza en tomate de cáscara.

Cruza	RP1	RP2	RTP	PF1	PF2	PPF
1	322.3 a	129.8 a-c	452.1 a-c	406.6 a	243.0 b	324.8 a
2	151.9 a-d	195.1 a-b	347.0 a-d	109.8 c-b	99.4 c-e	104.6 b-e
3	257.5 a-c	236.4 a	493.9 a	223.5 b	114.3 c-d	168.9 b
4	138.9 a-d	203.9 a-b	342.8 a-d	103.4 c-b	71.5 c-g	87.4 c-f
5	292.9 a-b	156.6 a-c	449.6 a-c	369.5 a	322.6 a	346.1 a
6	75.0 c-d	150.3 a-c	225.3 b-f	71.0 c	94.7 c-e	82.9 c-f
7	184.2 a-d	190.4 a-b	374.6 a-d	149.4 c-b	109.0 c-d	129.2 b-d
8	60.0 c-d	116.6 a-c	176.7 d-f	74.0 c	66.6 c-g	70.2 c-f
9	217.1 a-d	118.1 a-c	335.2 a-d	159.5 c-b	109.9 c-d	134.7 b-c
10	150.2 a-d	132.7 a-c	283.0 a-f	115.7 c-b	88.3 c-e	97.7 b-f
11	237.3 a-c	228.5 a	465.8 a-b	133.0 c-b	121.4 c	127.2 b-d
12	120.1 a-d	179.8 a-c	299.9 a-e	82.8 c	82.3 c-e	82.5 c-f
13	175.7 a-d	112.9 a-c	288.5 a-f	98.6 c-b	65.3 c-g	81.9 c-f
14	138.5 a-d	115.1 a-c	253.6 a-f	94.8 c-b	58.5 d-g	76.6 c-f
15	91.1 c-d	144.9 a-c	236.0 b-f	85.9 c-b	86.1 c-e	83.1 c-f
16	74.9 c-d	138.2 a-c	213.2 b-f	99.4 c-b	59.1 d-g	79.3 c-f
17	6.9 d	37.4 c	44.3 f	41.6 c	14.3 g	27.9 f
18	157.9 a-d	163.6 a-c	321.5 a-d	123.5 c-b	78.8 c-f	101.1 b-f
19	200.1 a-d	164.9 a-c	364.9 a-d	138.3 c-b	94.1 c-e	116.2 b-e
20	81.9 a-c	108.7 a-c	190.6 d-f	58.9 c	44.3 e-g	51.6 d-f
21	10.1 d	45.4 c	55.4 e-f	78.5 c	22.0 f-g	43.2 e-f
22	145.3 a-d	236.2 a	381.6 a-d	72.8 c	56.5 d-g	64.6 c-f
23	88.1 c-d	120.5 a-c	208.7 c-f	80.0 c	68.1 c-g	74.1 c-f
24	324.6 a	82.6 b-c	407.1 a-d	113.1 c-b	84.5 c-e	98.8 b-f
DMSH	32.3	21.7	38.8	21.1	8.8	12.0

^z Medias con la misma letra dentro de columnas son iguales (Tukey, P= 0.05); CRU: cruza; RP1: Rendimiento por planta del corte 1 (kg); RP2: Rendimiento por planta del corte 2 (kg); RTP: Rendimiento total por planta (kg); PF1: Peso de diez frutos del corte 1 (g); PF2: Peso de diez frutos del corte 2 (g); PPF: Peso promedio de diez frutos (g); DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta.

La interacción cruza x virus resultó significativa en las variables de tamaño de fruto (PF1, PF2 y PPF). En la Figura 3.1a se observa que los progenitores susceptibles 1 (Ámbar MT), 5 (Jade TFG) y 9 (Zafiro MSM) redujeron significativamente ($p \leq 0.05$) su peso de fruto en el corte 1 cuando fueron inoculados con virus. En contraste, las cruzas 3 (1x5) y 21 (6x1) tuvieron mayor tamaño de fruto en presencia de virus. En el resto de cruzas no hubo diferencias significativas para PF1.

Cuadro 3.9. Prueba de comparación de medias para el factor virus en tomate de cáscara.

Inoculación	RP1	RP2	RTP	PF1	PF2	PPF
Sin virus	182.0 a ^z	176.7 a	358.8 a	149.7 a	114.5 a	131.0 a
Con virus	127.7 b	110.9 b	238.6 b	112.3 b	75.9 b	92.8 b
DMSH	32.3	21.7	38.8	21.1	8.8	12.0

^z Medias con la misma letra dentro de columnas son iguales (Tukey, P= 0.05); RP1: Rendimiento por planta del corte 1 (kg); RP2: Rendimiento por planta del corte 2 (kg); RTP: Rendimiento total por planta (kg); PF1: Peso de diez frutos del corte 1 (g); PF2: Peso de diez frutos del corte 2 (g); PPF: Peso promedio de diez frutos (g); DMSH: Diferencia Mínima Significativa Honesta.

En la Figura 3.1b, para peso de fruto en el corte 2, la tendencia es similar que en el corte 1, porque los mismos progenitores siguieron con la reducción de tamaño de fruto. En este corte las cruzas 7 (2x5), 10 (3x4), 11 (3x5) y 15 (4x3) fueron las más afectadas por los virus. Para el peso promedio de 10 frutos en los dos cortes (Figura 1c), como era de esperarse, se observa que los progenitores susceptibles (1, 5 y 9) fueron los que redujeron su tamaño de fruto cuando fueron inoculadas con la mezcla de virus. En ninguna de las demás cruzas hubo reducción significativa del tamaño de fruto, lo cual indica que efectivamente los progenitores silvestres y las cruzas en que participan presentan genes de tolerancia a los virus que fueron inoculados (AMV, CMV, TEV, TMV, TSWV).

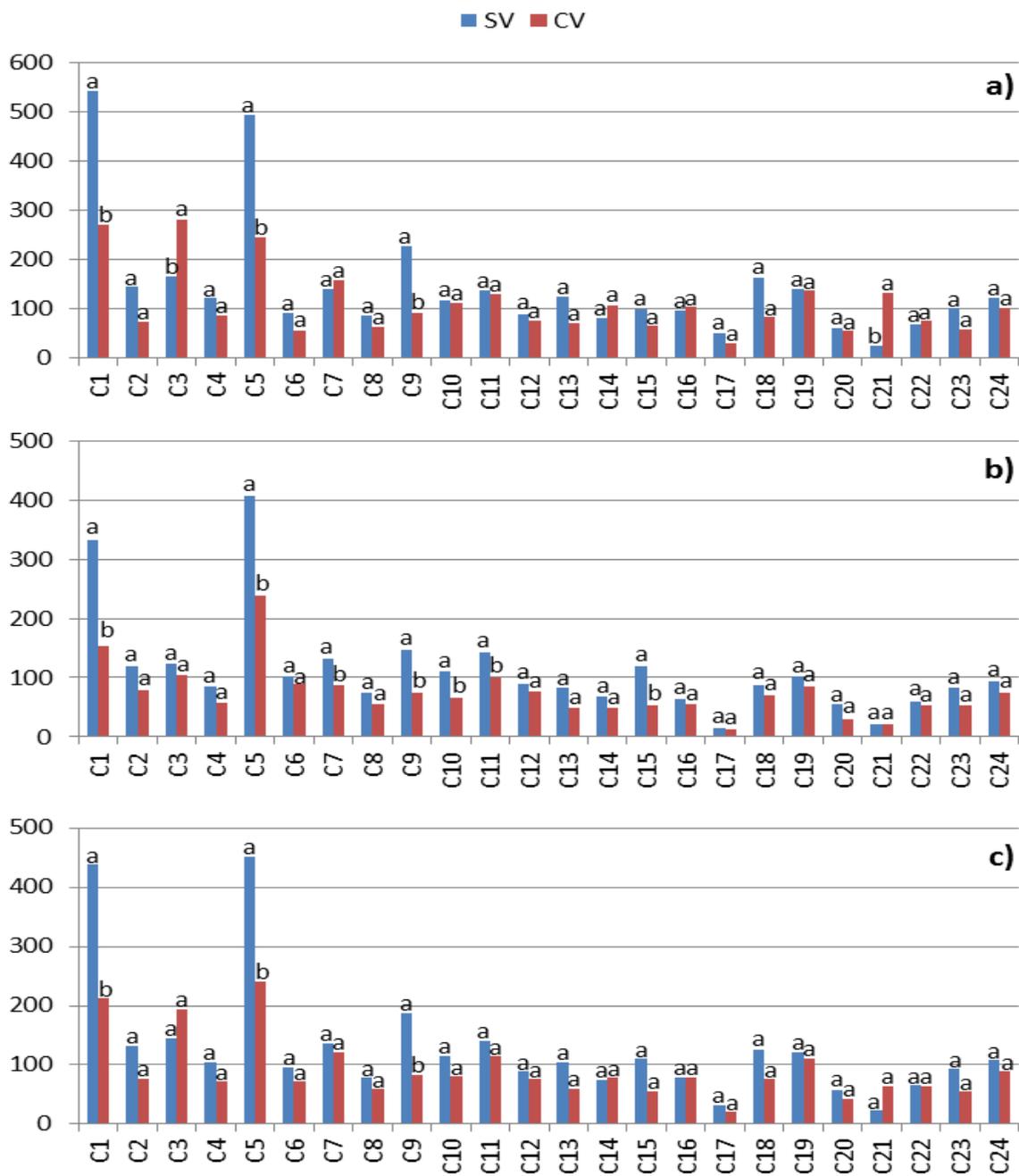


Figura 3.1. Tamaño de fruto de 24 cruzas de tomate de cáscara. a) peso de 10 frutos en el corte 1; b) peso de 10 frutos en el corte 2; c) peso promedio de 10 frutos.

3.4 Conclusiones

Las cruzas entre poblaciones silvestres resistentes a virus y variedades cultivadas susceptibles fueron compatibles, lo que indica que son de la misma especie.

Los efectos maternos fueron los más importantes que los recíprocos, por lo que se debe usar como hembra las variedades cultivadas y como macho las variedades silvestres en la incorporación de resistencia a virus por retrocruza.

De las poblaciones silvestres, el progenitor 5 (170 BNGEN) es el más apropiado para incorporar resistencia de virus a variedades cultivadas.

Los efectos no aditivos son importantes en la determinación del rendimiento por planta y el tamaño de fruto, debido a que se encontraron estimaciones significativas de heterosis respecto al progenitor medio.

Es posible incorporar resistencia a partir de las poblaciones silvestres, debido a que estas y las cruzas en que participaron mantuvieron su rendimiento y tamaño de fruto aún en presencia de virus.

3.5 Literatura citada

Allard R. W., & Montoya J. L. (1978) Principios de la mejora genética de las plantas. 3ª edición. Omega. Barcelona, España. 498 p.

Apodaca S. M. A., Barreras S., M. A., Cortez M. E., & Quintero J. A. (2008) Identificación e incidencia de enfermedades fungosas del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Sinaloa. INIFAP, México. 33 p.
<https://www.compucampo.com/tecnicos/enfermedades-tomatecascara-sin.pdf>

Ayala J. P., Peña L. A., & Mulato B. J. (1992) Caracterización de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot) en Chapingo, México. *Revista Chapingo* 79:128-137.

Bernardo R. (2010) Breeding for quantitative traits in plants. 3a edición. Stemma Press. Woodbury, MN, USA. 411 p.

Castillo G., F. y Goodman M. M. (1997) Research on gene flow between improved maize and landraces. *In* Gene Flow Among Maize Landraces, Improved Maize Varieties, and Teosinte: Implications for Transgenic Maize. Held at El Batán, Mexico. pp:67-72.

- Christie B. R., & Shattuck V. I. (1992) The diallel cross: Design, Analysis, and use for plant breeders. *In: Plant Breeding Reviews*. (eds.) Jhon Wiley & Sons. pp. 9-36.
- De La Torre-Almaráz R., Velarde, R., Méndez-Lozano J., Ascencio-Ibañez J. T. & Rivera-Bustamante R. F. (2002) Caracterización preliminar de un geminivirus en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* B.) en la región centro de México. *Agrociencia* 36: 471-481. <https://agrociencia-colpos.mx/index.php/agrociencia/article/view/200/200>
- Duvick D. N. (1999) Heterosis: feeding people and protecting natural resources. *In: The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops*. Crop Science Society of America. pp.19-30.
- Gardner C. O. & Eberhart S., A. (1966) Analysis and Interpretation of the Variety Cross Diallel and Related Populations. *Biometrics*. 22: 439-452. <http://dx.doi:10.2307/2528181>
- Griffing B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Science*. 9: 463-93. <http://www.publish.csiro.au/bi/pdf/BI9560463>
- Lu Y. (2014) Molecular Evolution at the Self-Incompatibility Locus of *Physalis longifolia* (Solanaceae). *Journal of Molecular Evolution*. 54: 784-783. <https://doi.org/10.1007/s00239-001-0080-3>
- Márquez S. F. (1988) Genotecnia Vegetal Tomo II. AGT Editor S. A. México, D. F. 665 p.
- Mastache L., A. A. & Martínez Garza A. (2003) Un algoritmo para el análisis, estimación y predicción en experimentos dialélicos balanceados. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26: 191-200. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/26-3/9a.pdf>
- Moncayo-Pérez C. D., Magaña-Lira N., Peña-Lomelí A., Leyva-Mir S. G., Sahagún-Castellanos J., & Pérez-Grajales M. (2020) Resistencia al carbón blanco (*Entyloma australe* Speg.) en germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis* spp.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 26: 65-77. <http://dx.doi:10.5154/r.rchsh.2019.09.016>
- Mulato-Brito J., Peña-Lomelí A., Sahagun-Castellanos J., Villanueva-Verduzco C., & López-Reynoso J.J. (2007) Self-Compatibility Inheritance in Tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Vegetable Crops Research Bulletin* 67: 17-24. <https://dx.doi:10.2478/v10032-007-0026-4>
- Ortuño-Olea L., Manzo-González A., & Peña-Lomelí A. (1998) Cultivo de anteras en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 4: 39-43. <https://dx.doi:10.5154/r.rchsh.1997.06.045>
- Peña-Lomelí A., Magaña-Lira N., Gámez-Torres A., Mendoza-Celino F. A., & Pérez-Grajales M. (2018) Polinización manual en dos variedades de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) en invernadero. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 24: 41-52. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2017.02.011>
- Peña L., A. & Márquez S., F. (1990) Mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo* 71: 85-88.

- Peña-Lomelí A., Molina-Galán, J. D., Cervantes-Santana T., Márquez-Sánchez F., Sahagún-Castellanos J., & Ortiz-Cereceres J. (1998) Heterosis intervarietal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo, Serie Horticultura* 4:31-37. <https://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.1997.12.093>
- Peña L., A., Molina G., J. D., Márquez S. F., Sahagún C. J., Ortiz C., J., & Cervantes S. T. (2002) Respuestas estimadas y observadas de tres métodos de selección en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) *Revista Fitotecnia Mexicana* 25:171.178. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/25-2/7a.pdf>
- Peña L., A., Molina G., J. D., Sahagún-Castellanos, J., Ortiz-Cereceres, J., Márquez-Sánchez F., Cervantes-Santana T., & Santiaguillo-Hernández J. F. (2008) Parametros genéticos en la variedad CHF1 Chapingo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 14:5-11. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2006.11.046>
- Peña-Lomelí A., Ponce-Valerio J. J., Sánchez-del-Castillo F., & Magaña-Lira N. (2014) Desempeño agronómico de variedades de tomate de cáscara en invernadero y campo abierto. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37:381-391. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/37-4/9a.pdf>
- Peña L., A. & Santiaguillo H., J. F (1999) Variabilidad Genética de tomate de cáscara en México. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 26 p.
- Pérez G., M., Márquez S., F., & Peña L., A. (1998) Mejoramiento Genético de Hortalizas. 2da ed. Mundi-Prensa México. México, D.F. 380 p.
- Santiaguillo H., J. F., Cervantes S., T., & Peña L., A. (2004) Selección para rendimiento y calidad de fruto de cruza planta x planta entre dos variedades de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 27:85-91. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/27-1/11a.pdf>
- SAS (2011) SAS/QC 9.3 User's guide. Cary, New York: Author. Cary, New York. <https://support.sas.com/documentation/cdl/en/qcug/63964/PDF/default/qcug.pdf>
- SNICS, Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (2020) Catálogo Nacional de Variedades Vegetales en línea. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Ciudad de México. <https://www.gob.mx/snics/acciones-y-programas/catalogo-nacional-de-variedades-vegetales-239452>
- Vasil I. K. (2007) A short history of plant biotechnology. *Phytochemistry Reviews* 7:387-394. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9075-z>

CAPÍTULO 4. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.)

RESUMEN

El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm) en México se encuentra como cultivo y como arvense dentro de un rango altitudinal amplio que va de los 10 hasta los 5600 msnm. Es una hortaliza muy importante en la dieta y economía mexicana. Uno de los principales problemas fitosanitarios es el ataque de virus. Algunas poblaciones silvestres han expresado resistencia o tolerancia a dicho ataque y las cultivadas son susceptibles. El objetivo fue estimar la diversidad genética existente entre poblaciones silvestres tolerantes a los principales virus que atacan a este cultivo, variedades mejoradas susceptibles y las cruzas entre ellas. Mediante 11 iniciadores ISSR se analizaron 119 muestras de tomate de cáscara, entre ellas 12 progenitores, de los cuales seis son poblaciones silvestres previamente seleccionadas como resistentes a virus y seis variedades mejoradas, así como las cruzas F₁ directas y recíprocas entre los 12 progenitores y sus F₂. El número de bandas promedio amplificadas por iniciador fue de 11.81, oscilando entre 9 (PI03) y 16 (ISSR 5). La caracterización molecular mediante este tipo de iniciadores permitió corroborar la existencia de alta variabilidad genética interpoblacional

Palabras clave: *Physalis ixocarpa*, marcadores ISSR, diversidad genética.

ABSTRACT

The The husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm) in Mexico is found as a crop and as a weed within a wide altitudinal range that goes from 10 to 5600 meters above sea level. It is a very important vegetable in the Mexican diet and economy. One of the main phytosanitary problems is the attack of viruses. Some wild populations have expressed resistance or tolerance to this attack. Using 11 ISSR primers, 119 husk tomato samples were analyzed, including 12 parents, of which six are wild populations previously selected as virus resistant and six improved varieties, as well as direct and reciprocal crosses between the 12 parents. The average number of amplified bands per primer was 11.81,

ranging between 9 (PI03) and 16 (ISSR 5). The molecular characterization by means of this type of initiators allowed to corroborate the existence of high inter-population genetic variability.

Key words: *Physalis ixocarpa*, ISSR markers, genetic diversity

4.1 Introducción

El tomate de cáscara es una de las principales hortalizas en México junto con chile (*Capsicum annuum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), jitomate o tomate rojo (*Solanum lycopersicum* L.), sandía (*Citrullus lanatus* M. & N.) y cebolla (*Allium cepa* L.). Actúa como un sustituto del jitomate y, a partir de 1990 prácticamente ha duplicado su superficie (Santiaguillo, Cedillo y Cuevas, 2010). La alta riqueza genética de *Physalis* en México se expresa en la existencia de especies silvestres, toleradas, fomentadas, cultivadas y domésticas, asociadas a diferentes tipos de vegetación y condiciones ecológicas (Peña & Santiaguillo, 1999). Las especies de *Physalis* se distribuyen en toda la República Mexicana, en una gran diversidad de ambientes, por lo que se les puede encontrar desde el nivel del mar hasta los 3570 msnm. No obstante, la mayoría de las especies prevalecen en estado silvestre y al menos 19 especies se recolectan para consumo en varios estados de México (Santiaguillo *et al.*, 2012). El consumo per cápita nacional es alto (3.5 kg) y su exportación a Estados Unidos de América y Canadá es cada vez mayor (Santiaguillo *et al.*, 2012).

Una característica del tomate de cáscara es que es una especie alógama obligada, ya que presenta autoincompatibilidad gametofítica, lo cual dificulta su mejoramiento por métodos tradicionales (Peña & Márquez, 1990; Santiaguillo, Cedillo & Cuevas, 2010). Las poblaciones heterogéneas de especies silvestres representan importantes fuentes de variación y son ampliamente usadas en los programas de mejoramiento genético (Terzopoulos & Bebeli, 2008). Por lo que la descripción y evaluación de germoplasma es importante para la conservación y uso de los recursos fitogenéticos en las actuales y futuras investigaciones sobre mejoramiento de los cultivos (Thul, Darokar, Shasany y Khanuja, 2011). Sin embargo, a pesar del potencial de variabilidad genética que ofrecen

las especies silvestres, la falta de información sobre características agronómicas y constitución genética ha limitado su uso.

El análisis de la relación genética en cultivos es un prerrequisito en programas de mejoramiento de cultivos, ya que proporciona información sobre la variabilidad genética (Mohammadi & Prasanna, 2003). De otro modo, la falta de diversidad genética puede reducir el potencial de resistencia de sistemas de cultivos hacia enfermedades desconocidas o en evolución, patógenos y condiciones ambientales adversas.

Existen dos clases de marcadores genéticos: los morfológicos y los moleculares. En primer orden, la caracterización e identificación tradicional de variedades se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos y agronómicos (Varshney, Graner & Sorrells 2005).

Existen antecedentes de la caracterización morfológica de tomate de cáscara que se basan en la guía publicada por la UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales) y el SNICS (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas) (Peña, *et al.*, 2011). No obstante, los rasgos morfológicos tienen limitaciones ya que son influenciados por factores ambientales y la etapa fenológica de la planta (Darvishzadeh & Bernousi, 2012).

Los marcadores moleculares basados en ADN son segmentos particulares de material genético los cuales evidencian polimorfismos que pueden localizarse en una región codificante o no codificante, y revelan la ocurrencia de cambios genéticos entre dos o más individuos (Picca, Helguera, Salomón & Carrera, 2004; Azofeifa-Delgado, 2006). Los resultados son visualizados como patrones de bandas en un gel; estos marcadores se han utilizado principalmente en estudios de diversidad genética (Araújo, Prabhu, Filippi & Chaves, 2001).

Dentro de los marcadores moleculares que han sido utilizados para determinar la variación genética en tomate se encuentran: Secuencia Simple Repetida (SSR) (Mazzucato *et al.*, 2010), Polimorfismos de ADN Amplificado al Azar (RAPD) (Ezekiel, Nwangburuka, Ajibade, & Odebode, 2020), Polimorfismos en la Longitud de Fragmentos

Amplificados (AFLP) (Edris *et al.*, 2014) y Polimorfismo de un Nucleótido Simple (SNP) (Corrado, Piffanelli, Caramante, Coppola & Rao, 2013).

Los marcadores Inter Secuencias Simples Repetidas (ISSR) son un método sencillo y rápido que combina la mayoría de las ventajas de SSR's y AFLP con la universalidad de los marcadores RAPD. Los ISSR son marcadores basados en la técnica de PCR, en la cual se involucra la amplificación de segmentos de ADN entre microsatélites adyacentes e inversamente orientados, que se pueden utilizar para distinguir diferencias genéticas entre individuos (Singh, Sharma, Srivastava & Bhagyawant, 2014). Los iniciadores pueden tener una longitud de 16-25 bp más 3-4 nucleótidos degenerados en un extremo para anclarse a la zona microsatélite. Éstos pueden ser di-, tri-, tetra- o penta-nucleótidos. Los marcadores ISSR son considerados muy útiles en estudios de diversidad genética, filogenia, genómica y biología evolucionaria (Pradeep & Siddiq, 2002).

Se ha demostrado la utilidad de los marcadores ISSR para evaluar la variabilidad genética del género *Solanum* (Edris *et al.*, 2014; Aguilera *et al.*, 2011), al permitir la distinción de morfotipos estrechamente relacionados en especies silvestres, lo cual ha facilitado su incorporación en programas de mejoramiento asistidos por marcadores moleculares en jitomate (Terzopoulos & Bebeli, 2008).

Por su parte, Wei, Hu, Yang y Yang (2012) evaluaron 38 accesiones de seis especies de *Physalis* utilizando 97 marcadores (COS, SSR y PIP) de jitomate y 25 marcadores ISSR de *P. peruviana* para probar la similitud entre especies y su capacidad de amplificación. Los resultados indicaron un 73 % de similitud entre *Physalis* sp. y *Solanum lycopersicum* L., por lo que los marcadores desarrollados en jitomate pueden ser usados en estudios moleculares de *Physalis*.

La información de la diversidad genética de tomate que es conservada en los bancos de germoplasma es necesaria para el desarrollo adecuado de estrategias de mejoramiento. El uso de marcadores moleculares puede facilitar el mejoramiento de tomate por medio de la selección asistida por marcadores para mejorar características agronómicas como rendimiento, calidad de fruto y resistencia a enfermedades (Abdein, Abd El-Moneim, Taha, Al-Juhani & Mohamed, 2018). Por otra parte, los marcadores moleculares han sido

de gran utilidad en el mejoramiento de los cultivos, de manera especial en el estudio de la diversidad genética.

Con el propósito de proporcionar información molecular útil para el mejoramiento genético del tomate de cáscara, el objetivo del presente estudio fue estimar la diversidad genética existente entre seis poblaciones silvestres tolerantes a los principales virus que atacan a este cultivo y seis variedades susceptibles, sus cruzas F₁ directas y recíprocas y sus F₂.

4.2 Materiales y métodos

Localización

El estudio se realizó en el Laboratorio de Mejoramiento Genético Asistido del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicada en la Carretera México-Texcoco Km 38.5, en Texcoco, Estado de México, en las coordenadas geográficas 19°49' LN y 98°87' LW y a una altitud de 2,250 metros sobre el nivel del mar.

Material vegetal

Se utilizaron 119 materiales (Cuadro 4.1) de los cuales 12 corresponden a los progenitores. De estos, seis son poblaciones silvestres tolerantes a los virus: virus mosaico del pepino (CMV), virus del grabado del tabaco (TEV) y virus mosaico del tabaco (TMV), pertenecientes al Banco Nacional de Germoplasma de Especies Nativas (BNGEN) de la Universidad Autónoma Chapingo, y seis son variedades registradas por la misma Universidad, inscritas en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas [SNICS], 2020). Los 107 materiales restantes corresponden a la F₁ y F₂ de las cruzas directas y recíprocas entre los progenitores silvestres y cultivados. En el origen se obtuvieron 72 cruzas F₁ y 72 F₂, pero 37 de ellas no germinaron o no produjeron planta suficiente para evaluarlas, por lo que solo se evaluaron 107 (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1 Relación de poblaciones de tomate de cáscara usadas como material experimental

No.	Clave	Descripción	No.	Clave	Descripción
1	C1	Gabriela	31	C5 x S1	Tecoautla x 147 BNGEN
2	C2	Puebla SM3	32	C5 x S2	Tecoautla x 88 BNGEN
3	C3	Zafiro MSM	33	C5 x S3	Tecoautla x 170 BNGEN
4	C4	Diamante	34	C5 x S4	Tecoautla x JAL 103
5	C5	Tecoautla	35	C5 x S5	Tecoautla x 201 BNGEN
6	C6	Gema	36	C6 x S1	Gema x 147 BNGEN
7	S1	147 BNGEN	37	C6 x S2	Gema x 88 BNGEN
8	S2	88 BNGEN	38	C6 x S3	Gema x 170 BNGEN
9	S3	170 BNGEN	39	C6 x S5	Gema x 201 BNGEN
10	S4	JAL 103	40	C6 x S6	Gema x 48 BNGEN
11	S5	201 BNGEN	41	S1 x C1	147 BNGEN x Gabriela
12	S6	48 BNGEN	42	S1 x C2	147 BNGEN x Puebla SM3
13	C1 x S1	Gabriela x 147 BNGEN	43	S1 x C5	147 BNGEN x Tecoautla
14	C1 x S2	Gabriela x 88 BNGEN	44	S2 x C2	88 BNGEN x Puebla SM3
15	C1 x S4	Gabriela x JAL 103	45	S2 x C3	88 BNGEN x Zafiro MSM
16	C1 x S5	Gabriela x 201 BNGEN	46	S2 x C4	88 BNGEN x Diamante
17	C1 x S6	Gabriela x 48 BNGEN	47	S2 x C5	88 BNGEN x Tecoautla
18	C2 x S1	Puebla SM3 x 147 BNGEN	48	S2 x C6	88 BNGEN x Gema
19	C2 x S3	Puebla SM3 x 170 BNGEN	49	S3 x C2	170 BNGEN x Puebla SM3
20	C2 x S4	Puebla SM3 x JAL 103	50	S3 x C4	170 BNGEN x Diamante
21	C2 x S6	Puebla SM3 x 48 BNGEN	51	S3 x C5	170 BNGEN x Tecoautla
22	C3 x S2	Zafiro MSM x 88 BNGEN	52	S3 x C6	170 BNGEN x Gema
23	C3 x S3	Zafiro MSM x 170 BNGEN	53	S4 x C2	JAL 103 x Puebla SM3
24	C3 x S4	Zafiro MSM x JAL 103	54	S4 x C5	JAL 103 x Tecoautla
25	C3 x S5	Zafiro MSM x 201 BNGEN	55	S4 x C6	JAL 103 x Gema
26	C4 x S2	Diamante x 88 BNGEN	56	S6 x C5	48 BNGEN x Tecoautla
27	C4 x S3	Diamante x 170 BNGEN	57	C1 x S1 F2	Gabriela x 147 BNGEN
28	C4 x S4	Diamante x JAL 103	58	C1 x S3 F2	Gabriela x 170 BNGEN
29	C4 x S5	Diamante x 201 BNGEN	59	C1 x S4 F2	Gabriela x JAL 103
30	C4 x S6	Diamante x 48 BNGEN	60	C1 x S5 F2	Gabriela x 201 BNGEN

S: progenitor silvestre; C: progenitor cultivado; BNGEN: Banco Nacional de Germoplasma de Especies Nativas de la Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México.

Cuadro 4.1 Continuación.

No.	Clave	Descripción	No.	Clave	Descripción
61	C1 x S6 F2	Gabriela x 48 BNGEN	91	S1 x C2 F2	147 BNGEN x Puebla SM3
62	C2 x S1 F2	Puebla SM3 x 147 BNGEN	92	S1 x C3 F2	147 BNGEN x Zafiro MSM
63	C2 x S2 F2	Puebla SM3 x 88 BNGEN	93	S1 x C5 F2	147 BNGEN x Tecozautla
64	C2 x S3 F2	Puebla SM3 x 170 BNGEN	94	S2 x C1 F2	88 BNGEN x Gabriela
65	C2 x S4 F2	Puebla SM3 x JAL 103	95	S2 x C2 F2	88 BNGEN x Puebla SM3
66	C2 x S6 F2	Puebla SM3 X 48 BNGEN	96	S2 x C3 F2	88 BNGEN x Zafiro MSM
67	C3 x S1 F2	Zafiro MSM x 147 BNGEN	97	S2 x C5 F2	88 BNGEN x Tecozautla
68	C3 x S2 F2	Zafiro MSM x 88 BNGEN	98	S2 x C6 F2	88 BNGEN x Gema
69	C3 x S3 F2	Zafiro MSM x 170 BNGEN	99	S3 x C1 F2	170 BNGEN x Gabriela
70	C3 x S4 F2	Zafiro MSM x JAL 103	100	S3 x C2 F2	170 BNGEN x Puebla SM3
71	C3 x S5 F2	Zafiro MSM x 201 BNGEN	101	S3 x C3 F2	170 BNGEN x Zafiro MSM
72	C4 x S1 F2	Diamante x 147 BNGEN	102	S3 x C4 F2	170 BNGEN x Diamante
73	C4 x S2 F2	Diamante x 88 BNGEN	103	S3 x C5 F2	170 BNGEN x Tecozautla
74	C4 x S3 F2	Diamante x 170 BNGEN	104	S3 x C6 F2	170 BNGEN x Gema
75	C4 x S4 F2	Diamante x JAL 103	105	S4 x C1 F2	JAL 103 x Gabriela
76	C4 x S5 F2	Diamante x 201 BNGEN	106	S4 x C2 F2	JAL 103 x Puebla SM3
77	C4 x S6 F2	Diamante x 48 BNGEN	107	S4 x C3 F2	JAL 103 x Zafiro MSM
78	C5 x S1 F2	Tecozautla x 147 BNGEN	108	S4 x C4 F2	JAL 103 x Diamante
79	C5 x S2 F2	Tecozautla x 88 BNGEN	109	S4 x C5 F2	JAL 103 x Tecozautla
80	C5 x S3 F2	Tecozautla x 170 BNGEN	110	S4 x C6 F2	JAL 103 x Gema
81	C5 x S4 F2	Tecozautla x JAL 103	111	S5 x C1 F2	201 BNGEN x Gabriela
82	C5 x S5 F2	Tecozautla x 201 BNGEN	112	S5 x C2 F2	201 BNGEN x Puebla SM3
83	C5 x S6 F2	Tecozautla x 48 BNGEN	113	S5 x C3 F2	201 BNGEN x Zafiro MSM
84	C6 x S1 F2	Gema x 147 BNGEN	114	S5 x C4 F2	201 BNGEN x Diamante
85	C6 x S2 F2	Gema x 88 BNGEN	115	S5 x C5 F2	201 BNGEN x Tecozautla
86	C6 x S3 F2	Gema x 170 BNGEN	116	S5 x C6 F2	201 BNGEN x Gema
87	C6 x S4 F2	Gema x JAL 103	117	S6 x C2 F2	48 BNGEN x Puebla SM3
88	C6 x S5 F2	Gema x 201 BNGEN	118	S6 x C5 F2	48 BNGEN x Tecozautla
89	C6 x S6 F2	Gema x 48 BNGEN	119	S6 x C6 F2	48 BNGEN x Gema
90	S1 x C1 F2	147 BNGEN x Gabriela			

S: progenitor silvestre; C: progenitor cultivado; BNGEN: Banco Nacional de Germoplasma de Especies Nativas de la Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México.

Caracterización molecular

Extracción y purificación de DNA

El método de extracción de ADN usado en este trabajo fue el de CTAB al 2 % (Doyle y Doyle, 1987) con algunas modificaciones. Para la obtención de plántulas se sembraron las semillas de los 119 materiales en charolas de poliestireno de 200 cavidades. Se utilizó como sustrato turba comercial (Cosmo Peat®). Una vez obtenidas las plántulas se procedió a pesar 0.3 g de tejido de hojas jóvenes y se utilizó como amortiguador de extracción: Tris-HCl 100 mM, EDTA-Na₂ 50 mM, NaCl 500 mM, 2-Mercaptoetanol 10 mM, SDS 1.3 %, pH 8.0. Posteriormente se centrifugó a 12000 rpm durante 20 minutos, al sobrenadante se le adicionó isopropanol frío y se dejó precipitar el ADN por 60 minutos. Luego se agregó solución STE (Tris-HCl 50 mM, EDTA-Na₂ 10 mM, NaCl 100mM, pH 8.0) y ARNasa-A (10 mg mL⁻¹) incubándose a 37 °C por una hora. Se utilizó acetato de sodio 3 M con isopropanol frío para precipitar el ADN, al cual se centrifugó 8000 rpm x 5 minutos y se eliminó el sobrenadante. El ADN se lavó con etanol 70 % y se dejó secar, para almacenarlo se disolvió en amortiguador TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA-Na₂ 1 mM, pH 8.0). El ADN así obtenido se mantuvo en refrigeración hasta su uso. Por la gran cantidad de material vegetal empleado sólo se realizó una extracción de ADN por muestra.

Cuantificación de la calidad y pureza del ADN

Una vez obtenido el ADN se procedió a su cuantificación, para lo cual, se utilizó un Nanodrop Lite Spectrophotometer (Thermo Scientific). Luego se procedió a homogeneizar las soluciones de todas las muestras a una concentración de 10 ng·µL⁻¹.

La calidad del ADN se determinó en un gel de agarosa al 0.8 %. La electroforesis se corrió en TAE 0.25 X. Una vez cargadas todas las muestras se tapó la cámara de electroforesis, se conectó a la fuente de poder y se corrió a 120 voltios por aproximadamente una hora. Luego se procedió a la tinción del gel con una solución de bromuro de etidio (0.5 µg·mL⁻¹) por 20 minutos. Transcurrido este tiempo se retiró el gel de la solución de bromuro de etidio y se colocó en un fotodocumentador transiluminador DigiDoc-It® Imaging System UVP para documentarlo.

Obtención de los patrones ISSR

En el presente estudio se utilizaron 11 iniciadores tipo ISSR que habían sido probados previamente en otros trabajos realizados en tomate de cáscara y seleccionados por producir alto polimorfismo (Carstensen, 2014; López, 2017). La amplificación del ADN se llevó a cabo mediante PCR y la mezcla de reacción se preparó de acuerdo con las especificaciones que se presentan en el Cuadro 4.2. En cada tubo Eppendorf de 1.5 mL se colocó un volumen total de 25 μL . Con el fin de minimizar errores de pipeteo se preparó el volumen total necesario para amplificar las 119 muestras.

Cuadro 10 Componentes de la mezcla de reacción en cadena de la Taq ADN polimerasa (PCR) para la obtención de los patrones ISSR

Reactivos	Concentración		Cantidad por Reacción
	Inicial	Final	
Agua	--	--	5.2 μL
dNTPs	500 μM c/u	200 μM	10 μL
Amortiguador	10x	1x	2.5 μL
MgCl ₂	50 mM	3.0 mM	1.5 μL
Iniciadores	10 ng μL^{-1}	30 ng	3 μL
ADN Taq pol	5 U $\cdot \mu\text{L}^{-1}$	1.5 U/reacción	0.3
ADN	10 ng $\cdot \mu\text{L}^{-1}$	25 ng	2.5

Los tubos se agitaron por inversión y se colocaron en un termociclador marca Techne modelo TC-412 bajo las condiciones de temperatura que se indican en el Cuadro 4.3.

Cuadro 11 Condiciones de temperatura de los ciclos de amplificación por PCR para la obtención de patrones ISSR

Fase	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Duración por fase	No. de Ciclos
Pre-desnaturalización	93	1 min	1
Desnaturalización	93	20 seg	} 40
Alineamiento	55-60*	1 min	
Extensión	72	20 seg	
Extensión final	72	6 min	1

*Depende de la temperatura de alineamiento de cada iniciador

La separación de los fragmentos amplificados se hizo por electroforesis en gel de agarosa al 2 % (Ultrapura Invitrogen No. 16500-500). La electroforesis se corrió a 120 voltios durante una hora. Luego se procedió a teñir el gel en bromuro de etidio (0.5 µg/mL) durante 15 minutos y posteriormente se procedió a fotodocumentar los geles obtenidos para cada iniciador con el transiluminador DigiDoc-It® Imaging System UVP.

4.3 Análisis estadístico

Se cuantificó el número de bandas bien definidas producto de la amplificación, asignándose el valor de 1 a la presencia y de 0 a la ausencia de cada banda. De esta manera se construyó una matriz básica de datos (MBD) para realizar los diferentes análisis.

Con la MBD se calculó la distancia genética de Dice ($1 - S$) entre pares de materiales, así como el índice de diversidad genética esperada (H_e) de Nei (1987), mediante el programa GenAlEx versión 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). Se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico mediante el método de medias aritméticas no ponderadas UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Means) y se construyó el dendrograma correspondiente. Para observar la distribución espacial de las poblaciones de tomate evaluadas se realizó un análisis de coordenadas principales (ACoP) con el método de covarianza estandarizada. Estos análisis se llevaron a cabo con el programa XLSTAT versión 2017.3 (Addinsoft, 2017).

4.4 Resultados y discusión

Obtención de patrones ISSR

Mediante el uso de 11 iniciadores se obtuvieron 130 bandas, de las cuales 122 fueron polimórficas, lo cual representó un porcentaje de polimorfismo del 93.85 % (Cuadro 4.4). El número de bandas amplificadas por iniciador osciló entre 9 (PI03) y 16 (ISSR5). Los iniciadores que produjeron el mayor número de bandas polimórficas fueron ISSR 1 e ISSR 5. Estos resultados coinciden con los encontrados por Carstensen (2014), quien señala que los iniciadores con repeticiones de bases CA fueron de los más informativos en estudios de variabilidad molecular en tomate de cáscara. Estudios previos con

marcadores tipo ISSR realizados en tomate de cáscara por Vargas-Ponce, Pérez-Álvarez, Zamora-Tavares y Rodríguez, (2010), Carstensen (2014) y López (2017), han demostrado su utilidad para detectar variaciones entre genotipos. Ellos usaron 6, 22 y 15 iniciadores y obtuvieron 101, 178 y 369 bandas polimórficas y un porcentaje de polimorfismo de 100, 82.7 y 90.8 %, respectivamente.

Análisis de agrupamiento

El coeficiente más alto de disimilitud genética (0.646) se observó entre las cruzas 147 BNGEN x Puebla SM y Diamante x 88 BNGEN, mientras que el valor más bajo (0.118) se observó entre los progenitores 147 BNGEN y 88 BNGEN.

En el análisis de agrupamiento jerárquico se encontró que a partir de un valor de corte de 0.3 se formaron tres grupos (Figura 4.1). El Grupo 1 incluye los genotipos de los progenitores de las cruzas, así como algunas de las cruzas correspondientes a la F_1 , las cuales tuvieron como característica principal en común que los progenitores maternos fueron las poblaciones mejoradas, mientras que los paternos fueron los progenitores silvestres y tolerantes a virus. En el Grupo 2 se localizaron la mayoría de las poblaciones F_2 . Este grupo tiene como característica común que los progenitores femeninos fueron las poblaciones silvestres tolerantes a virus que presentan frutos pequeños y bajo rendimiento. Por el contrario, en el Grupo 3 se ubicaron las poblaciones F_2 en donde los progenitores femeninos fueron las poblaciones mejoradas, con frutos de tamaño grande (Sánchez-Martínez y Peña-Lomelí, 2015). El hecho de que las generaciones F_2 se hayan separado en grupos genéticos distintos, de acuerdo con las características de los progenitores femeninos, corrobora lo reportado por Camposeco-Montejo, Robledo-Torres y Flores-Naveda (2020), quienes señalan la existencia de efectos maternos en el tomate de cáscara que influyen de manera significativa las principales características agronómicas productivas.

Cuadro 12 Productos de amplificación obtenidos con 11 iniciadores en 119 materiales de tomate de cáscara

Iniciador	Secuencia 5' - 3'	Bandas totales	Bandas monomórficas	Bandas polimórficas	% de polimorfismo
ISSR 1	(CA) ₈ AAGG	15	0	15	100.00
ISSR 5	(AC) ₈ CTA	16	1	15	93.75
ISSR 6	(AC) ₈ CTG	13	1	12	92.30
ISSR 8	(AC) ₈ CTT	11	0	11	100.00
ISSR 10	(GA) ₈ T	11	2	9	81.81
UBC 842	(GA) ₈ CTG	12	0	12	100.00
UBC 844	(CT) ₈ AC	12	0	12	100.00
UBC 866	(CTC) ₆	10	1	9	90.00
PI01	(CA) ₆ AGCT	11	2	9	89.65
PI03	AGCT(GACA) ₃	9	0	9	100.00
LOL 9	(CAC) ₃ GC	10	1	9	90.00
TOTAL		130	8	122	93.85

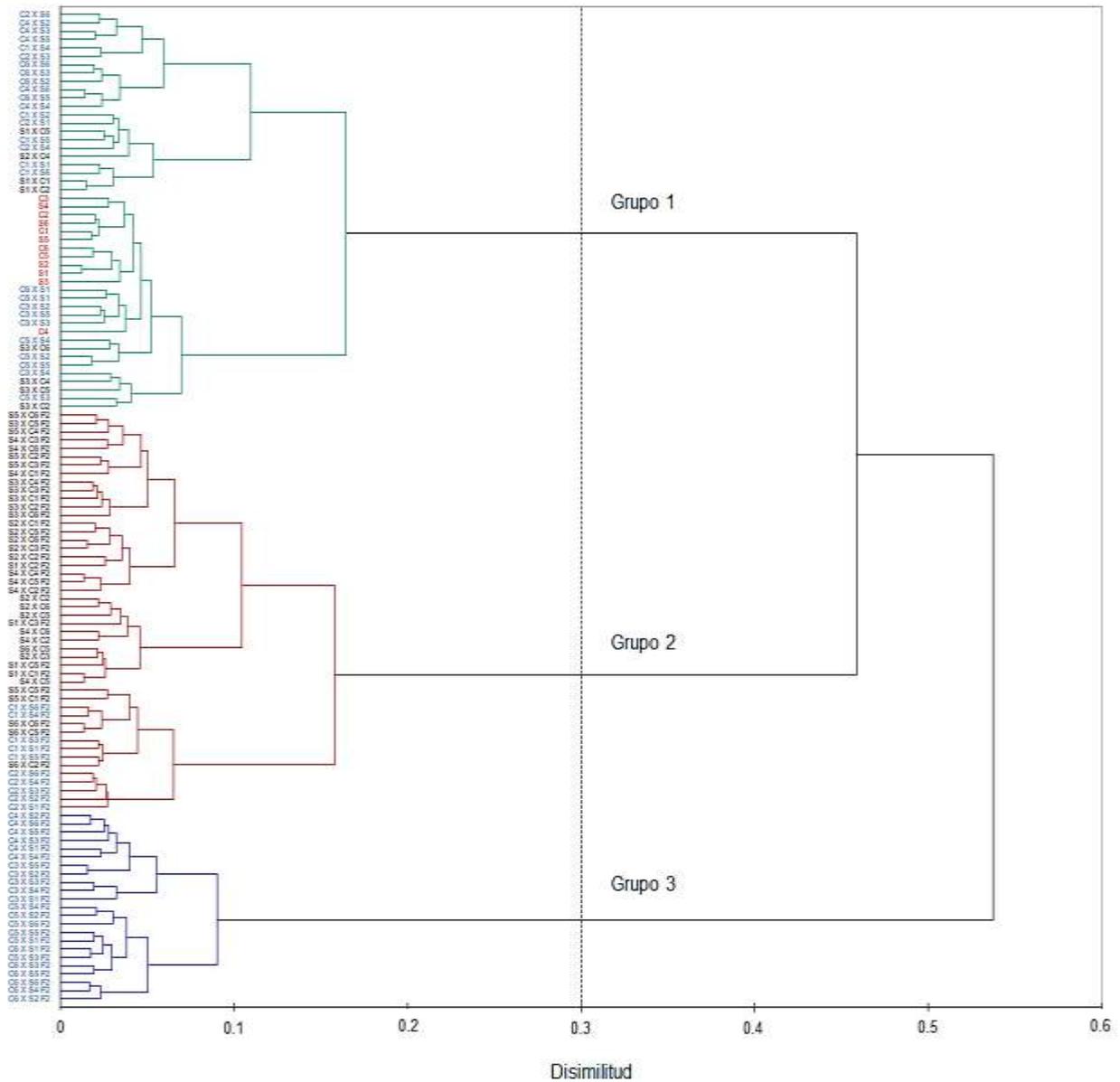


Figura 4.1 Dendrograma de 119 poblaciones de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.), construido con base en el coeficiente Dice y con el método de agrupamiento jerárquico de varianza mínima Ward. En el eje vertical, los progenitores están en color rojo; las cruces directas, en azul, y las cruces recíprocas, en negro

Con objeto de corroborar la agrupación obtenida se procedió a realizar un Análisis de Coordenadas Principales (ACoP), el cual se presenta en la Figura 4.2. En ella puede apreciarse que la primera coordenada explicó el 17.65 % de la variación y la segunda el 31.34 %. Las poblaciones se agruparon en concordancia con el dendrograma en tres grupos, de acuerdo con el grado de similitud (o distancia) genética. Dentro del Grupo 1

ubicado en el Cuadrante I se concentraron principalmente los progenitores, mientras que en el Cuadrante II se ubicaron las cruzas F₁ cuyos progenitores femeninos fueron las poblaciones mejoradas. En el Cuadrante III se localizó el Grupo 2 integrado por la mayoría de las cruzas F₂. Finalmente, en el Cuadrante IV quedó ubicado el Grupo 3, conformado por el resto de las cruzas F₂. Adicionalmente, se puede observar que cinco de las cruzas de este grupo, las cuales tuvieron en común que los progenitores femeninos fueron poblaciones mejoradas, se localizaron dentro del Cuadrante I, en el cual se ubicaron las poblaciones progenitoras.

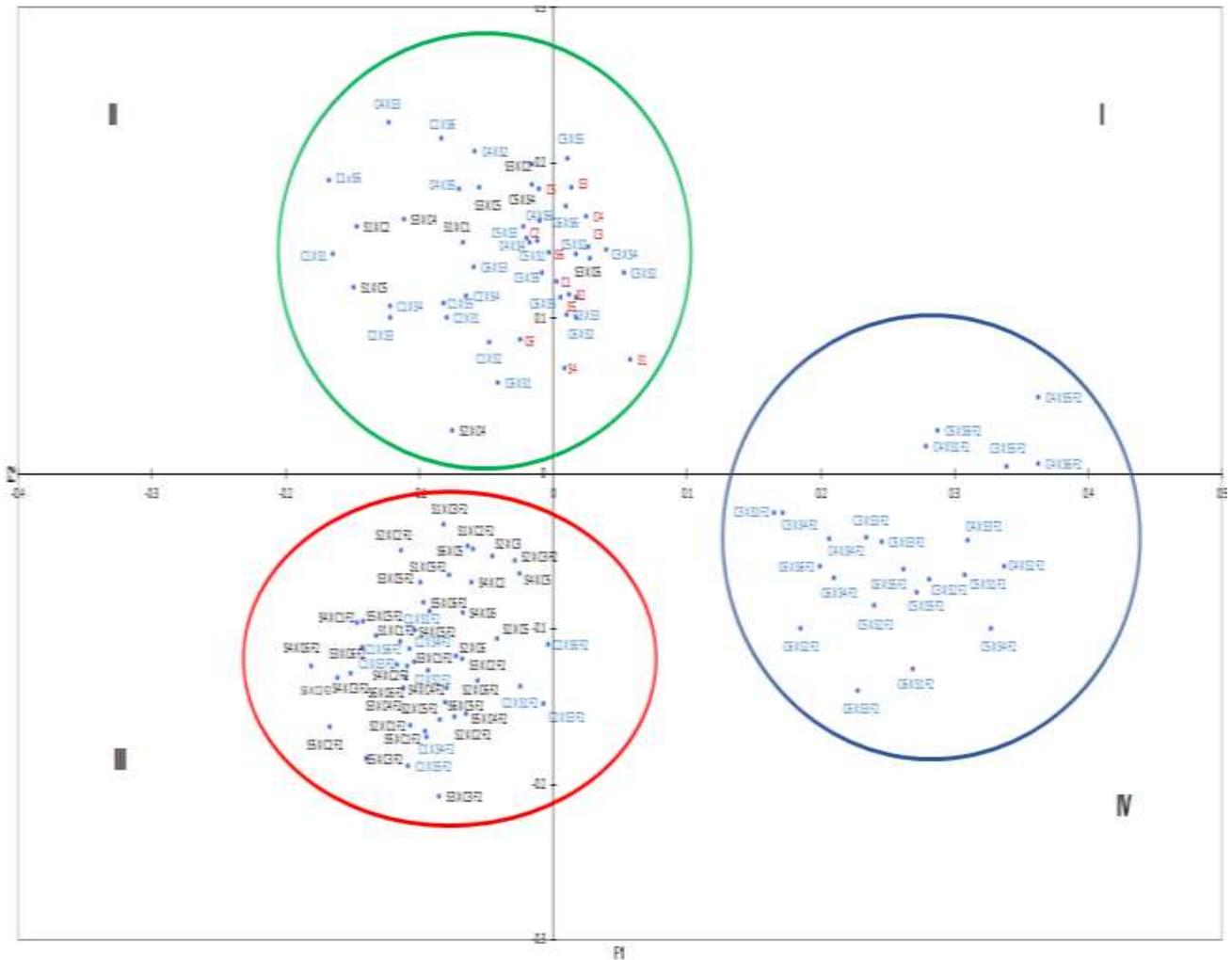


Figura 4.2 Análisis de coordenadas principales para las 119 muestras de tomate de cascará (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horn) con el método de covarianza mínima estandarizada con base en la matriz de distancias de Dice. Las etiquetas en rojo corresponden a los progenitores; en azul, a las cruzas directas, y en negro, a las cruzas recíprocas.

4.5 Conclusiones

Los marcadores ISSR permitieron identificar variaciones genéticas intra-poblacionales en especies de *Physalis*, ya que se obtuvo un alto grado de polimorfismo, lo cual indica que el número y los iniciadores seleccionados fueron los indicados.

Existe relación entre los progenitores y las cruzas que tuvieron como progenitor femenino a las variedades mejoradas.

La variabilidad molecular presente en las 119 poblaciones de *Physalis* evaluadas se distribuyó en tres grupos: progenitores y cruzas F₁ cuyos progenitores femeninos fueron variedades mejoradas; cruzas F₁ y F₂ cuyos progenitores femeninos fueron variedades silvestres tolerantes a virus, y las F₂ provenientes de variedades mejoradas susceptibles a virus.

4.6 Literatura citada

- Abdein, M. A., Abd El-Moneim, D., Taha, S. S., Al-Juhani, W. S., & Mohamed, S. E. (2018). Molecular characterization and genetic relationships among some tomato genotypes as revealed by ISSR and SCoT markers. *Egyptian Journal of Genetics And Cytology*, 47(1), 139-159. <http://journal.esg.net.eg/index.php/EJGC/article/view/281>
- Addinsoft (2017) XLSTAT Data analysis and statistics with Microsoft Excel Paris France MacOS ed. 2017. <https://www.xlstat.com/en/>
- Aguilera, J. G., Pessoni, L. A., Rodrigues, G. B., Elsayed, A. Y., Da Silva, D. J. H. y De Barros, E. G. (2011). Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicon* Mill.). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 6(2), 243 – 252. doi: 10.5039/agraria.v6i2a998
- Araújo, L. G., Prabhu, A. S., Filippi, M. C., & Chaves, L. J. (2001). RAPD analysis of blast resistant somaclones from upland rice cultivar IAC 47 for genetic divergence. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 67(2), 165–172. doi: 10.1023/a:1011960225472
- Azofeifa-Delgado, Á. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía mesoamericana*, 17(2), 221-242. http://www.mag.go.cr/rev_meso/v17n02_221.pdf
- Camposeco-Montejo, N., Robledo-Torres, V., & Flores-Naveda, A. (2020). Estimación de heterosis y heterobeltiosis en híbridos interpoblacionales de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot). *Tecnología en Marcha*, 33(2), 91-101. doi: 10.18845/tm.v33i2.4339

- Carstensen B, K. (2014). Caracterización molecular y criopreservación de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex. Horm.). Universidad Autónoma Chapingo, México
- Corrado, G., Piffanelli, P., Caramante, M., Coppola, M., & Rao, R. (2013). SNP genotyping reveals genetic diversity between cultivated landraces and contemporary varieties of tomato. *BMC Genomics*, *14*(1), 835. doi: 10.1186/1471-2164-14-835
- Darvishzadeh, R. & Bernousi, I. (2012). Molecular similarity relationships among iranian bread wheat cultivars and breeding lines using ISSR markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *40*(2), 254-260. doi: 10.15835/nbha4027949
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytolog Bulletin*, *19*(1), 11-15. https://webpages.uncc.edu/~jweller2/pages/BINF8350f2011/BINF8350_Readings/Doyle_plantDNAextractCTAB_1987.pdf
- Edris, S., Abo-Aba, S., Algandaby, M. M., Ramadan, A. M., Gadalla, N. O., Al-Kordy, M. A., & Bahieldin, A. (2014). Molecular characterization of tomato cultivars grown in Saudi Arabia and differing in earliness of fruit development as revealed by AFLP and ISSR. *Life Science Journal*, *11*(8), 602-612. http://www.lifesciencesite.com/ljsj/life1108s/122_26626life1108s14_602_612.pdf
- Ezekiel, C. N., Nwangburuka, C. C., Ajibade, O. A., & Odebode, A. C. (2011). Genetic diversity in 14 tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties in Nigerian markets by RAPD-PCR technique. *African Journal of Biotechnology*, *10*(25), 4961-4967. doi:10.5897/AJB11.144
- López M., H. (2017). Detección de resistencia a virus en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot. ex. Horm.) mediante marcadores moleculares. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Mazzucato, A., Ficcadenti, N., Caioni, M., Mosconi, P., Piccinini, E., Reddy Sanampudi, V. R., & Ferrari, V. (2010). Genetic diversity and distinctiveness in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces: The Italian case study of “A pera Abruzzese.” *Scientia Horticulturae*, *125*(1), 55–62. doi: 10.1016/j.scienta.2010.02.021
- Mohammadi, S. A., & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants – salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, *43*(4), 1235. doi: 10.2135/cropsci2003.1235
- Nei, M. (1987). Molecular evolutionary genetics. Columbia university press.
- Peakall, R. & Smouse, P. E. (2012). GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, *28*(19): 2537–2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Peña L., A., & Santiaguillo H., J. F. (1999). Variabilidad Genética de tomate de cascara en México. Departamento de Fitotecnia. Vol. 3. México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Peña L., A.; Magaña L., N., Montes H., S., Sánchez M., J., Santiaguillo H., J. F., Grimaldo J., O., & Contreras R., A. (2011). Manual gráfico para la descripción varietal de

- tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.). México, D.F.: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas - Universidad Autónoma Chapingo.
- Peña L., A., & Márquez S., F. (1990). Mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo* 15(71-72), 84-88.
- Picca, A., Helguera, M., Salomón, N., & Carrera, A. (2004). Marcadores moleculares. *En: Echenique, V.; Rubinstein, C. y Mroginsky L. Biotecnología y mejoramiento vegetal. INTA.* p. 61-68. <https://es.scribd.com/doc/156452868/Biotecnologia-y-Mejoramiento-Vegetal-INTA-pdf>
- Pradeep-Reddy, M., Sarla, N., & Siddiq, E. A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128(1), 9–17. doi: 10.1023/a:1020691618797
- Sánchez-Martínez, J. y Peña-Lomelí, A. (2015). *Variedades de uso común; un breve mirar a la riqueza mexicana vol II tomate de cáscara*. México: SNICS-SAGARPA. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/231855/Variedades_de_uso_comun_vol_II_tomate_de_cascara.pdf
- Santiaguillo H., J. F., Cedillo P., E. y Cuevas S., J. A. (2010). *Distribución geográfica de Physalis spp. en México*. México: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas - Universidad Autónoma Chapingo.
- Santiaguillo H., J. F., Vargas P., O., Grimaldo J., O., Magaña L., N., Caro V., F., Peña L., A., y, Sánchez M., J. (2012). *Diagnóstico del tomate de cáscara* [Libro electrónico]. México: Universidad Autónoma Chapingo. <https://www.researchgate.net/publication/242085443>
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). (2020). Consultado 21-10-2020 en <https://www.gob.mx/snics/articulos/catalogo-nacional-de-variedades-vegetales-en-linea>.
- Singh, P. K., Sharma, H., Srivastava, N., & Bhagyawant, S. S. (2014). Analysis of genetic diversity among wild and cultivated chickpea genotypes employing ISSR and RAPD markers. *American Journal of Plant Sciences*, 5(5), 676-682. doi: 10.4236/ajps.2014.55082
- Terzopoulos, P. J. & Bebeli, P. J. (2008). DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae*, 116(4), 354–361. doi: 10.1016/j.scienta.2008.02.010
- Thul, S. T., Darokar, M. P., Shasany, A. K., & Khanuja, S. P. S. (2011). Molecular profiling for genetic variability in *Capsicum* species based on ISSR and RAPD markers. *Molecular Biotechnology*, 51(2), 137–147. doi: 10.1007/s12033-011-9446-y
- Vargas-Ponce, O., Pérez-Álvarez, L. F., Zamora-Tavares, P., & Rodríguez, A. (2010). Assessing genetic diversity in mexican husk tomato species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29(3), 733–738. doi: 10.1007/s11105-010-0258-1

- Varshney, R., Graner, A., & Sorrells, M. (2005). Genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends in Plant Science*, 10(12), 621–630. doi: 10.1016/j.tplants.2005.10.004
- Wei, J., Hu, X., Yang, J. y Yang, W. (2012). Identification of single-copy orthologous genes between *Physalis* and *Solanum lycopersicum* and analysis of genetic diversity in *Physalis* using molecular markers. *PLoS ONE*, 7(11), e50164. doi: 10.1371/journal.pone.0050164