



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Enseñar la explotación de la tierra, no la del hombre.

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA
Posgrado en Biotecnología Agrícola**

**CARACTERIZACIÓN MORFOLOGICA Y MOLECULAR DE 34
COLECTAS NATIVAS DE JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)**

TESIS

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

**MAESTRIA EN CIENCIAS
EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA**



PRESENTA

LUZ DEL CARMEN GARCÍA NERIA

Chapingo, México, Junio 2012.



Instituto de Horticultura

**CARACTERIZACIÓN MORFOLOGICA Y MOLECULAR DE 34 COLECTAS NATIVAS DE
JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)**

Esta tesis fue realizada por Luz del Carmen García Neria bajo la dirección del Consejo Particular que se indica, ha sido aprobada por él mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRIA EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTORA:



DRA. MARGARITA GISELA PEÑA ORTEGA

ASESOR:



DR. JUAN ENRIQUE RODRÍGUEZ PÉREZ

ASESOR:



DR. JOSÉ OSCAR MASCORRO GALLARDO

ASESOR:



DR. JUAN MARTÍNEZ SOLÍS

Chapingo, Estado de México. Junio de 2012

DATOS BIOGRÁFICOS

Luz del Carmen García Neria nació el 7 de Abril de 1985 en La Delegación Miguel Hidalgo, Distrito Federal.

Realizó sus estudios de licenciatura en la Universidad Autónoma Chapingo durante 2003-2007 y en el año 2008 obtuvo el título de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola.

Realizó sus estudios de Maestría en Ciencias en Biotecnología Agrícola durante 2009-2010 en la Universidad Autónoma Chapingo.

Actualmente se desempeña como Signatario Autorizado de Diagnóstico Fitosanitario en el Grupo Integral de Servicios Fitosanitarios ENA, S.A. de C.V. (GISENA).

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Universidad Autónoma Chapingo por la oportunidad y el apoyo que me brindaron para realizar mis estudios de maestría.

Al comité asesor: Dra. Margarita Gisela Peña Ortega, Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, Dr. José Oscar Mascorro Gallardo y Dr. Juan Martínez Solís, por su invaluable ayuda y sobretodo su gran paciencia para esperar a que este trabajo pudiera llegar a su fin.

A los técnicos del laboratorio de Biotecnología Agrícola M.C. María Elisa Alvarado Cano y Q.F.B. Ricardo Gaspar Hernández por su colaboración en la realización de este trabajo.

A mi esposo Fernando Gaspar Puente por su gran motivación para la culminación de esta tesis.

Al Grupo Integral de Servicios Fitosanitarios ENA, S.A. de C.V. (GISENA) por la facilidades otorgadas para finalizar este trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres Adelina Neria Ríos y Gabriel García Herrera por haberme apoyado en todo momento y enseñarme a ser la persona que soy.

A mi hermano Marco Antonio García Neria por su ejemplo de perseverancia y superación.

A mi esposo Fernando Gaspar Puente por ser la mejor persona que conozco y transformar mi vida con su amorosa presencia.

A la familia Neria Ríos por contribuir en mi formación espiritual y creer en mí desde siempre.

A Brenda, Leticia, Saraí, Verónica y Yareli Yazmín por brindarme su cariño y amistad.

ÍNDICE

ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
SUMMARY	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
III. HIPÓTESIS	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1 Importancia de la diversidad genética.....	4
4.2 Caracterización de germoplasma.....	6
4.2.1 Caracterización morfológica	6
4.2.3 Uso de marcadores morfológicos y moleculares en genotipos silvestres de jitomate	8
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
5.1 Localización del sitio experimental.....	11
5.2 Material experimental.....	11
5.3 Caracterización morfológica.....	13

5.4 Caracterización molecular.....	15
5.4.1 Extracción de ADN.....	15
5.4.2 Evaluación de la cantidad y calidad del ADN.....	16
5.4.3 Obtención de patrones ISSR	17
5.4.4 Análisis estadístico	20
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
6.1 Caracterización morfológica.....	22
6.1.1 Análisis de agrupamiento.....	22
6.1.2 Análisis Discriminante	23
6.2 Caracterización molecular.....	30
6.2.1 Análisis de patrones de marcadores ISSR	30
VII. CONCLUSIONES	38
VIII. LITERATURA CITADA.....	39
IX. ANEXO	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Colectas evaluadas y su origen.	12
Cuadro 2. Caracteres morfológicos cualitativos evaluados en 34 colectas nativas de jitomate según la lista de descriptores del IPGRI (1996).....	14
Cuadro 3. Caracteres morfológicos cuantitativos evaluados en 34 colectas nativas de jitomate.....	15
Cuadro 4. Secuencias de iniciadores seleccionados para la obtención de los patrones ISSR en 34 genotipos de jitomate.	18
Cuadro 5. Componentes de la mezcla de reacción en cadena de la Taq ADN polimerasa (PCR), para la obtención de los patrones ISSR.....	19
Cuadro 6. Condiciones de temperatura de los ciclos de amplificación de la PCR (Reacción en Cadena de la Taq ADN Polimerasa), para la obtención de los patrones ISSR.	20
Cuadro 7. Valores propios de variables discriminantes con base en el análisis de cuatro grupos de colectas nativas de jitomate.....	24
Cuadro 8. Estructura total canónica de variables discriminantes definidas a partir de cuatro grupos de colectas de jitomates nativos.	25
Cuadro 9. Grupos de colectas nativas de jitomate obtenidos a partir de su caracterización morfológica.....	27
Cuadro 10. Número de bandas amplificadas con 12 iniciadores en 34 colectas nativas de jitomate.	30
Cuadro 11. Agrupación obtenida mediante la caracterización molecular.	34

Cuadro 12. Comparación de las agrupaciones proporcionadas por los marcadores morfológicos y moleculares	35
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Patrones de bandeo resultantes de la prueba de 21 iniciadores (de Sigma®), Carriles: 1:ISSR 1, 2: ISSR 2, 3: ISSR 3, 4: ISSR 4, 5: ISSR 5, 6: ISSR 6, 7: ISSR 7, 8: ISSR 8, 9: ISSR 9, 10: ISSR 10, 11: UBC 819, 12: UBC 820, 13: UBC 822, 14: UBC 823, 15: UBC 828, 16: UBC 829, 17: UBC 840, 18: UBC 841, 19: UBC 862, 20: UBC 866, 21: UBC 873. M: marcador de peso molecular 1kb plus (Invitrogen®).	18
Figura 2. Dendrograma jerárquico de 34 colectas de jitomates nativos obtenido con distancias euclidianas elevadas al cuadrado y el método de mínima varianza de Ward.....	23
Figura 3. Representación gráfica de variables discriminantes de cuatro grupos de 34 colectas nativas de jitomates de acuerdo a sus características morfológicas. .	26
Figura 4. Patrones de bandas ISSR obtenidos con los iniciadores ISSR 10, UBC 822 y UBC 823 (A, B y C, respectivamente) de 34 colectas nativas de jitomate. M: Marcador de peso molecular 1 kb (Invitrogen®). B: Blanco, F: Frijol.	31
Figura 5. Dendrograma construido usando el índice de similitud de Bray-Curtis (1957) con los patrones de bandas ISSR de 34 colectas nativas de jitomate.	33

CARACTERIZACIÓN MORFOLOGICA Y MOLECULAR DE 34 COLECTAS NATIVAS DE JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF 34 NATIVE LANDRACES OF TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.)

Luz del Carmen García Neria¹ y Margarita Gisela Peña Ortega².

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron 34 genotipos nativos de jitomate colectados en los estados de Puebla, Hidalgo, Veracruz, Chiapas y Guerrero durante 2005-2009 para estimar la variabilidad genética entre ellos y obtener sus huellas genéticas mediante marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). El jitomate es una especie que ha sido sometido a un intenso proceso de mejoramiento derivando en una reducida variabilidad genética que puede ser recuperada mediante los parientes silvestres, que han desarrollado resistencia a los factores adversos de la naturaleza. Los resultados obtenidos en la caracterización morfológica generaron seis grupos con base en las características de hojas, flores, tallo y fruto. En la caracterización molecular se obtuvieron cuatro grupos; inicialmente se emplearon 21 iniciadores inter-microsatélite, únicamente 12 de ellos produjeron bandas amplificadas registrables. De 85 bandas amplificadas, sólo 60 permitieron encontrar diferencias entre genotipos generando un porcentaje de polimorfismo de 71. La agrupación obtenida estuvo altamente relacionada con el lugar de origen de los materiales evaluados y tipo de fruto, presentando un 65 % de concordancia entre los agrupamientos realizados a partir de caracteres morfológicos y perfiles moleculares. El presente trabajo describe morfológica y molecularmente 34 colectas aportando datos para evaluar su utilidad como accesiones en un banco de germoplasma o como posibles progenitores en un programa de mejoramiento genético.

Palabras clave: Caracterización morfológica y molecular, ISSR, colectas nativas, *Solanum lycopersicum* L.

SUMMARY

In this study, 34 native landraces collected from 2005 to 2009 at Puebla, Hidalgo, Veracruz, Chiapas and Guerrero, Mexico, were evaluated in order to estimate genetic variability among them through morphological traits, and their ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) fingerprints. The tomato crop has undergone an intense process of genetic improvement resulting in reduced genetic variability, which can be retrieved from wild relatives, which in turn have developed resistance to biotic and abiotic stresses. The quantification of morphological traits related to leaves, flowers, stems and fruits generated six different groups, while the molecular characterization revealed only four groups. From the 21 primers initially used, only 12 of them produced recordable bands. Out of 85 total amplified bands, only 60 of them allowed to find differences among the tested genotypes, which in turn represented 71 percentage of polymorphism. Formed groups relate closely to geographical origin and fruit type; there was a 65 % concordance between morphological and molecular profiles. This paper describes both, morphologically and molecularly, 34 tomato collections; the obtained data allow the assessment of their usefulness as to be included in a genebank, and also to evaluate their potential as foundation parents in a breeding program.

Keywords: Morphological and molecular characterization, ISSR, native collections, *Solanum lycopersicum* L.

¹ Tesista

² Director

I. INTRODUCCIÓN

El jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las aportaciones vegetales de México más extendida a nivel mundial. El grado de aceptación que tiene se evidencia por el hecho de que el consumo nacional de jitomate alcanza 1, 220, 342 toneladas, lo cual representa un consumo per cápita de 13.1 kilogramos. La producción de jitomate genera al año mil 200 millones de dólares en divisas, además de ser fuente de 72 mil empleos directos y 10.7 millones de indirectos; el valor de la producción alcanza 12 mil 700 millones de pesos. En 2009 se cultivaron 53 mil hectáreas en las que se obtuvo una producción de 2.3 millones de toneladas, de las cuales el 50 por ciento se destinó al mercado de exportación.

En las especies cultivadas, se han realizado procesos de mejoramiento genético de manera intensiva, lo cual ha incrementado el rendimiento y calidad de los productos de importancia antropocéntrica, pero simultáneamente ha conducido a la reducción de la variabilidad genética. De tal forma que las variedades comerciales actuales poseen solamente una pequeña muestra de la amplia variabilidad existente, sobre todo en especies que se reproducen por autofecundación, donde la recombinación genética es casi inexistente de manera natural. El jitomate se encuentra dentro de esta categoría, ya que mediante mejoramiento genético se han obtenido híbridos altamente productivos, sin embargo se ha tenido que recurrir a la variabilidad genética presente en sus parientes silvestres para identificar resistencias a enfermedades y características de calidad.

Los principales programas de mejoramiento genético de jitomate en el mundo son desarrollados por empresas transnacionales, las cuales venden semillas híbridas a precios mayores a 40 centavos de dólar por semilla, los cuales suelen ser excesivos para muchos productores mexicanos, debido a lo cual se han implementado programas de mejoramiento genético que utilizan colectas nativas para generar variedades e híbridos que permitan elevar los niveles productivos y que tengan un costo más accesible para los productores.

La mayor variabilidad genética del jitomate se encuentra en sus parientes silvestres, los cuales constituyen una fuente muy importante para el mejoramiento genético de este cultivo, por lo que su conservación es fundamental como reserva genética para futuros programas de mejoramiento. Sin embargo, se desconoce el grado de diversidad genética presente en México. Un mayor conocimiento del comportamiento de distintas accesiones puede obtenerse a partir de la medición de caracteres morfológicos, así como a través del uso de marcadores moleculares de ADN.

II. OBJETIVOS

Caracterizar morfológica y molecularmente 34 colectas nativas de jitomate.

Generar una estrategia de uso y conservación y determinar la posibilidad de incluirlos en un programa de mejoramiento genético.

Contrastar la eficiencia de los caracteres morfológicos y moleculares para diferenciar genotipos.

III. HIPÓTESIS

Existe variabilidad genética entre colectas de jitomate de diferente procedencia.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Importancia de la diversidad genética

La mayoría de las especies a partir de las cuales fueron seleccionadas las plantas cultivadas continúan sobreviviendo en condiciones silvestres, al igual que otras especies estrechamente relacionadas con ellas. Este complejo constituye los “parientes silvestres” de los cultivos (Hoyt, 1992). Durante su evolución, dichas especies han desarrollado múltiples características que les han permitido sobrevivir en condiciones muy diferentes a las de los cultivos; presentan tolerancia a altas y bajas temperaturas, sequías, condiciones edáficas adversas, y se han adaptado para enfrentarse a los diferentes peligros de la naturaleza, incluida la fitofagia por lo que han desarrollado resistencia genética a plagas y enfermedades comúnmente dañinas a las especies cultivadas (Hoyt, 1992; Eigenbrode *et al.*, 1993; Pérez *et al.*, 1997). Esto explica el que sean una de las principales fuentes de germoplasma para el mejoramiento genético de las especies cultivadas (Hoyt, 1992).

El jitomate cuenta con una amplia diversidad de parientes silvestres, algunos de ellos son: *S. cheesmaniae*, *S. pimpinellifolium* L., *S. chmielewskii*, *S. neorickii*, *S. habrochaites*, *S. chilense*, *S. peruvianum* L. y *S. penelli* (Peralta *et al.*, 2005).

México como uno de los centros de origen y diversificación de este cultivo cuenta con amplia variabilidad genética, por lo que la conservación de estos recursos fitogenéticos es considerada una actividad prioritaria en el ámbito mundial, debido a las implicaciones tan significativas que la diversidad genética tiene sobre el

desarrollo de nuevas variedades de plantas para la alimentación y la agricultura (Hernández, 1993; Rao y Hodgkin, 2002).

La diversidad genética vegetal es el producto de un largo proceso de selección natural o bajo domesticación, siendo la mutación, la migración y la hibridación las fuentes primordiales de variación (Santiaguillo y López, 1992). Los parientes silvestres del jitomate han sido utilizados para incorporar a los cultivares modernos características como resistencia genética a plagas y enfermedades, contenido de vitaminas y color de fruto, entre otras (Hoyt, 1992). Por lo anterior, el conocimiento y conservación de las características de estas especies resulta de suma importancia para la producción agroalimentaria mundial (Eigenbrode *et al.*, 1993; Pérez *et al.*, 1997). Es indispensable un mejor conocimiento de la diversidad genética, entendida ésta como la cantidad de variabilidad genética entre individuos de una variedad o poblaciones de una especie, en donde los estudios ecogeográficos son de fundamental importancia (Hoyt, 1992; Rao y Hodgkin 2002). En términos prácticos, la diferenciación de ecotipos afecta características como los grados relativos de desarrollo, la resistencia a factores bióticos y abióticos, respuestas edáficas y a la fertilidad del suelo, entre otros. Pero más importante es el hecho de que esos ecotipos son la consecuencia de largos periodos de interacción entre el medio ambiente y los sistemas genéticos (Rao y Hodgkin, 2002).

En México, el jitomate silvestre se encuentra ampliamente distribuido en zonas de reserva ecológica y asociado a campos de cultivo donde eventualmente suele convertirse en maleza (Rodríguez *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2006). Las mayores

poblaciones de jitomate silvestre se han colectado a altitudes que van de 0 a 1 200 m.s.n.m. (Vargas *et al.*, 2005; Sánchez *et al.*, 2006). En regiones cálidas (< 300 m.s.n.m.), las plantas presentan menor altura y se asocian con especies que les brindan sombra, mientras que en regiones templadas esas plantas las protegen del frío (Vargas *et al.*, 2005). La amplia distribución del jitomate silvestre ha permitido que se cuente con poblaciones con características diferentes para responder a los factores bióticos y abióticos de mortalidad (Rao y Hodgkin, 2002).

4.2 Caracterización de germoplasma

La caracterización morfológica y/o molecular de individuos permite determinar el grado de diversidad genética y su distribución, entre y dentro de poblaciones de una determinada especie, así como el establecimiento de relaciones filogenéticas entre ellos.

4.2.1 Caracterización morfológica

La caracterización morfológica es un conjunto de observaciones que permiten distinguir a una población de plantas que constituyen una variedad vegetal (SNICS, 2001) y averiguar la relación filogenética entre estos caracteres (González y Pita, 2001). Puede ser utilizada en: sistemática, identificación o determinación de especies, análisis de diversidad, relaciones genéticas, gestión de bancos de germoplasma, descripción varietal y búsqueda de marcadores útiles en el mejoramiento genético.

Los caracteres morfológicos son características fenotípicas de identificación visual tales como forma, color, tamaño o altura. Muchos de ellos se convierten en

importantes descriptores para inscribir nuevas variedades. Este tipo de mediciones contribuyó significativamente al desarrollo teórico del ligamiento genético y a la construcción de las primeras versiones de mapas genéticos. Una de sus principales desventajas es que muchos de ellos se expresan en estadio de planta adulta, lo cual prolonga los tiempos de evaluación en los programas de mejoramiento. No obstante, permanecen como caracteres útiles en la identificación de materiales dado que representan la expresión de un conjunto de genes que puede ser evaluada con métodos sencillos y a bajo costo.

4.2.2 Caracterización molecular

La variabilidad genética de una especie puede ser explorada mediante la utilización de marcadores moleculares de ADN, los cuales son puntos de referencia que funcionan como huellas de diferentes regiones del genoma, que pueden o no corresponder a un gen específico, son ampliamente utilizados en genética, permiten evidenciar variaciones (polimorfismos) en la secuencia del ADN entre dos individuos, modifiquen éstas o no su fenotipo. Son de utilidad en estudios evolutivos y de genética poblacional, manejo de bancos de germoplasma, identificación, protección legal de germoplasma, mapeo, selección asistida por marcadores y clonado de genes.

Un marcador ideal debe ser: altamente polimórfico o variable dentro y entre especies, de herencia mendeliana no epistática, insensible a los efectos ambientales, codominante, de rápida identificación y simple análisis y de posible detección en los estadios tempranos del desarrollo de la planta.

4.2.2.1 Marcadores ISSR

Los microsatélites del tipo Inter secuencias simples repetidas (ISSR por sus siglas en inglés Inter-Simple-Sequence-Repeat), son una variante de la técnica RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* - ADN polimórfico amplificado al azar), aunque probablemente son más rigurosos que ésta debido a la alta temperatura de alineamiento utilizada (Robinson y Harris, 2000). La amplificación ISSR es una técnica que puede diferenciar rápidamente individuos relacionados estrechamente. Involucra la amplificación por PCR del ADN usando un único iniciador compuesto de una secuencia de microsatélite anclado al extremo 3' ó 5' por 2 - 4 nucleótidos arbitrarios y a menudo degenerados. La amplificación ISSR puede revelar muchos más fragmentos por iniciador que los RAPDs (Deqiu *et al.*, 1998).

Los marcadores ISSR tienen la ventaja de generar grandes cantidades de bandas, por lo cual pueden distinguir accesiones relacionadas estrechamente de manera más confiable que otras técnicas y son menos caros que los RFLP ó RAPD (Deqiu *et al.*, 1997).

4.2.3 Uso de marcadores morfológicos y moleculares en genotipos silvestres de jitomate

En caracterizaciones morfológicas previas de jitomates silvestres realizadas en México se ha encontrado que los caracteres más variables fueron peso y diámetro del fruto, los cuales oscilaron entre 0.66 a 0.96 g y 0.6 a 1.6 cm, respectivamente (Hernández, 1997; Constantino, 2001).

Las evaluaciones de jitomates con un mayor grado de domesticación identificaron colectas como Palenque, Comitán, Chiapas y Rojo Cherry, con diámetros de fruto

mayores a 3.3 cm como genotipos con alto potencial para ser utilizados en programas de mejoramiento genético (Ortega y Rodríguez, 2000; Ortega, 2003).

La caracterización de variedades autóctonas de jitomate cultivadas en Valencia, España, utilizando los descriptores del IPGRI (Instituto Internacional para los Recursos Genéticos de las Plantas) confirmó la existencia de una alta variabilidad en genotipos tradicionales, que podría utilizarse para seleccionar material vegetal con características agronómicas, comerciales y alimentarias de utilidad para las variedades comerciales (Rodríguez y Parra, 2005).

En el año 2002 los ISSR se emplearon para estudiar la diversidad genética y relaciones filogenéticas de 54 accesiones silvestres y cultivares del género *Lycopersicon*. Mediante el uso de 14 iniciadores se amplificaron un total de 318 fragmentos, obteniéndose un polimorfismo específico del 95.6 %. La filogenia basada en los resultados de los ISSR fue en general concordante con la taxonomía de *Lycopersicon* realizada a partir de pruebas morfológicas, lo cual confirma la aplicabilidad del análisis ISSR para el genotipado y estudios filogenéticos en el jitomate (Kochieva *et al.*, 2002).

Otro estudio realizado con marcadores ISSR para evaluar la variabilidad genética de 96 accesiones de jitomate, utilizó diez iniciadores que produjeron 144 bandas, de las cuales sólo 53 fueron polimórficas; el iniciador UBC 840-(GA)₈ YT en particular fue el que produjo el mayor número de bandas polimórficas (13 bandas) (Aguilera *et al.*, 2011).

También los marcadores ISSR han sido utilizados para la caracterización comparativa de *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon pennellii*, *Lycopersicon*

cheesmanii, *Lycopersicon humboldtii*, *Lycopersicon hirsutum*, junto con dos líneas isogénicas de *Lycopersicon esculentum*. Se encontró que nueve de los 14 iniciadores utilizados fueron capaces de diferenciar las especies probando que, además de su alta confiabilidad, reproducibilidad y la rapidez de desarrollo, los ISSRs pueden identificar un importante número de polimorfismos en el jitomate, lo cual los hace especialmente útiles en el fitomejoramiento de este cultivo (Tikunov *et al.*, 2003). Dichos reportes concuerdan con Bojinov y Danailov (2009) quienes indican que los ISSR pueden ser utilizados exitosamente para la identificación de genotipos estrechamente relacionados.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización del sitio experimental

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Agrícola e Invernadero de mejoramiento genético de jitomate ubicado en el Campo Agrícola Experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México, localizado a 19° 29'LN y 98° 53'LO, con altitud de 2240 msnm, con una temperatura media anual de 15.9 °C y una precipitación media anual de 686 mm.

5.2 Material experimental

En el presente estudio se evaluaron 34 colectas nativas de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) obtenidas durante 2005 a 2009 en los estados de Puebla, Hidalgo, Veracruz, Chiapas y Guerrero. Los genotipos se establecieron bajo condiciones de invernadero durante el ciclo primavera verano del 2009 en macetas con capacidad de 15 kilogramos llenas con tezontle. En cada maceta se colocaron dos plantas y se establecieron tres macetas por colecta.

Cuadro 1. Colectas evaluadas y su origen.

Colecta	Nombre	Procedencia	Tipo de fruto
1	Cereza 1	Cuetzalan, Pue.	Cherry
2	Cherry	Huautla, Hgo.	Cherry
3	Cereza 2	Cuetzalan, Pue.	Cherry
4	Cereza 4	Cuetzalan, Pue.	Cherry
5	Totonaca 1	Ecatlán, Pue.	Riñón
6	Totonaca 2	Ecatlán, Pue.	Riñón
7	Totonaca 3	Ecatlán, Pue.	Riñón
8	Totonaca 4	Tuzamapan de Galeana, Pue.	Riñón
9	Arriñonado 4	Machetla, Hgo.	Cherry
10	Cimarrona 1	Zozocolco de Hidalgo, Ver.	Cherry
11	Cimarrona 2	Zozocolco de Hidalgo, Ver.	Cherry
12	Cimarrona 3	Zozocolco de Guerrero, Huehuetla, Pue.	Cherry
13	Cimarrona 4	Zozocolco de Guerrero, Huehuetla, Pue.	Cherry
14	Cimarrona 5	Zozocolco de Guerrero, Huehuetla, Pue.	Cherry
15	Cuautomate	Xicotepec de Juárez, Pue.	Riñón
16	Arriñonado 3	Necaxa, Pue.	Riñón
17	Arriñonado 2	Huautla, Hgo.	Riñón
18	Arriñonado 1	Huautla, Hgo.	Riñón
19	Totonaca 5	Tuzamapan de Galeana, Pue.	Riñón
20	Arriñonado	Ixcatlán, Hgo.	Riñón
21	Rojo	Huautla, Hgo.	Cherry
22	Amarillo-Chamaquico	Machetla, Hgo.	Cherry
23	S/Na	Independencia Chis.	Cherry
24	Cherry	Comitán, Chis.	Cherry
25	Cherry	Martínez de la Torre, Ver.	Cherry
26	Semi comercial	Ecatlán, Pue.	Riñón
27	S/Nb	Palenque, Chis.	Riñón
28	S/Nc	Huitzuco, Gro.	Cherry
29	S/Nd	Guerrero	Cherry
30	Cherry	Tehuacán, Hgo.	Cherry
31	Riñón	Tehuacán, Hgo.	Riñón
32	Riñón	Misantla, Ver.	Riñón
33	Riñón	Tehuacán, Hgo.	Riñón
34	Arriñonado-5	Se desconoce	Riñón

Nota: S/N: Sin Nombre.

5.3 Caracterización morfológica

Las 34 colectas de jitomate fueron caracterizadas morfológicamente en cada uno de sus estadios de desarrollo fenológico mediante la cuantificación de descriptores cualitativos y cuantitativos propuestos por el IPGRI (1996), cuyo listado se presenta en los cuadros 2 y 3, respectivamente.

Cuadro 2. Caracteres morfológicos cualitativos evaluados en 34 colectas nativas de jitomate según la lista de descriptores del IPGRI (1996).

Carácter	Escala de medición
Plántula	
Antocianinas en el hipocótilo	1= Ausente 2= Presente
Hábito de 3 a 4 semanas de edad	1= Normal 2= Compacto
Color del hipocótilo	1= Verde 2= $\frac{1}{4}$ púrpura de la base 3= $\frac{1}{2}$ púrpura de la base 4= Púrpura
Intensidad de color del hipocótilo	3= Baja 5= Intermedia 7= Alta
Pubescencia del hipocótilo	0= Ausente 1= Presente
Planta	
Vigor de la planta	3= Pequeña 5= Intermedia 7= Larga
Densidad foliar	3= Dispersa 5= Intermedia 7= Densa
Posición de las hojas	3= Semierecta 5= Horizontal 7= Caída
Tipo de hoja	1= Pequeña 2= Tipo papa 3= Estándar 4= <i>Peruvianum</i> 5= <i>Pimpenellifolium</i> 6= <i>Hirsutum</i> 7= Otro
Flor	
Tipo de corola de la flor	1= Cerrada 2= Abierta
Posición del estilo	1= Insertado 2= Al mismo nivel del estambre 3= Ligeramente sobresaliente con respecto al estambre 4= Altamente sobresaliente con respecto al estambre
Forma del estilo	1= Simple 2= Fasciado 3= Dividido
Pubescencia del estilo	0= Ausente 1= Presente
Dehiscencia de las tecas	1= Poricidal 2= Longitudinal
Fruto	
Forma del fruto	3= Redondo 5= Angular 9= Riñón
Homogeneidad del tamaño	3= Bajo 5= Intermedio 7= Alto
Color exterior de frutos maduros	1= Verde 2= Amarillo 3= Anaranjado 4= Rosa 5= Rojo 6= Otro
Intensidad de color exterior	3= Claro 5= Intermedio 7= Oscuro
Nervadura al final del cáliz	1= Muy débil 2= Débil 5= Intermedio 7= Fuerte
Forma del hombro del fruto	1= Liso 2= Ligeramente deprimido 5= Moderadamente deprimido 7= Totalmente deprimido
Forma de la flor al final del fruto	1= Hundida 2= Redonda 3= Puntiguda
Condición final de la cicatriz de la flor	1= Abierta 2= Cerrada 3= Ambas
Color de la pulpa	1= Verde 2= Amarillo 3= Anaranjado 4= Rosa 5= Rojo 6= Otro
Intensidad del color de la pulpa	3= Clara 5= Intermedio 7= Oscura
Intensidad del color de la placenta	1= Verde 2= Blanco 3= Claro 5= Intermedia 7= Oscuro
Forma del fruto en corte transversal	1= Redonda 2= Angular 3= Irregular
Forma de la cicatriz del pistilo	1= Punto 2= Estrellada 3= Lineal 4= Irregular
Semilla	
Forma de las semillas	1= Globular 2= Ovalada 3= Triangular
Color de las semillas	1= Ligeramente amarillo 2= Amarillo oscuro 3= Gris 4= Café 5= Café oscuro

Cuadro 3. Caracteres morfológicos cuantitativos evaluados en 34 colectas nativas de jitomate.

Carácter	Escala de medición	Carácter	Escala de medición
Plántula		Flor	
Longitud de la hoja principal	Centímetros	Número de racimos en 2 metros de longitud	Número
Ancho de la hoja principal	Centímetros	Número de hojas en 2 metros de longitud	Número
Planta		Fruto	
Número de hojas bajo la primera inflorescencia	Número	Diámetro del fruto	Centímetros
Diámetro del tallo en la base	Centímetros	Longitud de la capa de abscisión	Centímetros
Diámetro del tallo en la parte media	Centímetros	Longitud del pedicelo	Centímetros
Diámetro del tallo en la parte superior	Centímetros	Ancho del fruto	Centímetros
Flor		Largo del fruto	Centímetros
Longitud de pétalos	Centímetros	Peso del fruto	Gramos
Longitud de sépalos	Centímetros	Tamaño de la placenta	Centímetros
Longitud del estambre	Centímetros	Lóculos por fruto	Número

5.4 Caracterización molecular

5.4.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN de las 34 colectas se llevó a cabo bajo el siguiente protocolo. A partir de hojas jóvenes (se emplearon diez plántulas por colecta) se tomaron 0.3 g de tejido que se colocaron en un mortero previamente enfriado con nitrógeno líquido; se agregó nitrógeno líquido y se maceró hasta obtener un polvo fino, el cual se transfirió a 700 µL de amortiguador de extracción contenidos en un microtubo de 1.5 mL precalentado a 65 °C en el termoblock. El microtubo se agitó hasta homogeneizar; enseguida se calentó nuevamente a 65 °C en el termoblock durante 10 minutos y se agregaron 200 µL de acetato de potasio 5M; la muestra

se enfrió en hielo por 30 a 60 minutos y se centrifugó durante 20 minutos a 12,000Xg. El sobrenadante se transfirió a otro microtubo con 600 µL de isopropanol preenfriado y se dejó a -20 °C por 30 a 60 minutos para precipitar el ADN. Posteriormente se centrifugó a 6000Xg durante 5 minutos y se decantó cuidando de no eliminar la pastilla de ADN, a la cual se agregaron 700 µL de solución para disolver. Una vez disuelto el ADN, se adicionaron 4 µL de ARNasa y se incubó a 37 °C durante un periodo no menor a una hora.

Posteriormente el ADN fue reprecipitado con 75 µL de acetato de sodio 3 M y 500 µL de isopropanol frío durante dos horas. Después fue centrifugado a 8000Xg durante 5 minutos, se eliminó el sobrenadante y la pastilla de ADN fue lavada con etanol (grado reactivo) al 70 %. Nuevamente se centrifugó a 8000Xg durante 5 minutos, se eliminó el sobrenadante y el ADN fue secado a temperatura ambiente. Finalmente se disolvió en 50 µL de TE y se almacenó a 4 °C. Se realizaron cinco repeticiones por genotipo, es decir, un total de 170 extracciones.

5.4.2 Evaluación de la cantidad y calidad del ADN

Se procedió a determinar la concentración de ADN en ng/µL en las muestras usando el nanodrop; enseguida se realizaron diluciones para dejar todas las muestras a una concentración de 10 ng/µL. Posteriormente se procedió a mezclar las diez repeticiones para formar un “bulk” por genotipo.

Para determinar la calidad del ADN se utilizó un gel de agarosa al 8 %, colocando en un matraz 0.8 g de agarosa con 100 mL de amortiguador TAE 1X (Tris base 40 mM, pH 7.8; acetato de sodio 20 mM y EDTA 2 mM, pH 8.0). Esto se mezcló y se

puso a hervir hasta disolver perfectamente, se dejó enfriar y se vació en un portageles. Cuando se solidificó se colocó en una cámara de electroforesis y se cubrió con amortiguador de corrida TAE 1 X.

Posteriormente, se colocaron sobre cinta parafilm 2 μL de amortiguador de carga (0.2 % azul de bromofenol, 0.2 % xileno cianol, 25 % glicerol, 5 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl, pH 8.0), mismos que se mezclaron con 10 μL de cada muestra y posteriormente se colocaron en los pozos centrales del gel; en los extremos se adicionaron 3 μL de marcador de peso molecular de 1 kb. Finalmente, se realizó la electroforesis con 90 voltios durante 1.5 h. Concluida la electroforésis, el gel se removió y se tiñó en una solución a base de bromuro de etidio (0.6 $\mu\text{g}\cdot\mu\text{L}$ en TAE 1 X) por 20 minutos. Después se escurrió y se colocó sobre un transiluminador de luz UV y se documentó con una cámara Kodak EDAS 290.

5.4.3 Obtención de patrones ISSR

Se probaron originalmente 21 iniciadores (de Sigma®) (Figura 1), de los cuales se seleccionaron los 12 que mostraron mayor número de bandas bien definidas (Cuadro 4).

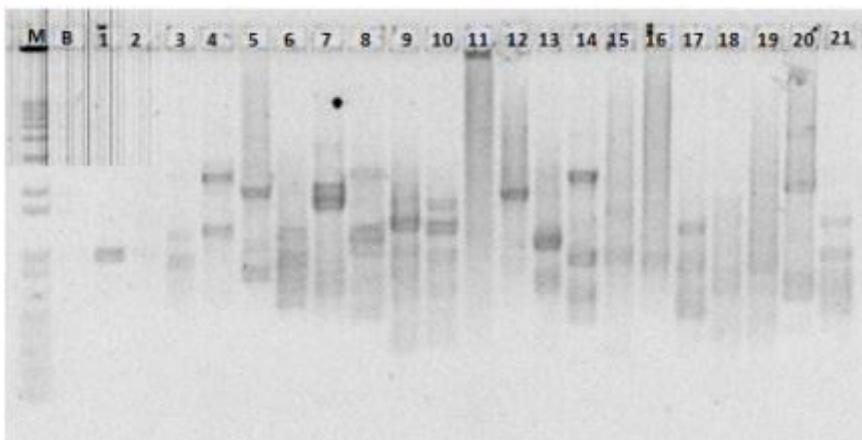


Figura 1. Patrones de bandeo resultantes de la prueba de 21 iniciadores (de Sigma®), Carriles: 1:ISSR 1, 2: ISSR 2, 3: ISSR 3, 4: ISSR 4, 5: ISSR 5, 6: ISSR 6, 7: ISSR 7, 8: ISSR 8, 9: ISSR 9, 10: ISSR 10, 11: UBC 819, 12: UBC 820, 13: UBC 822, 14: UBC 823, 15: UBC 828, 16: UBC 829, 17: UBC 840, 18: UBC 841, 19: UBC 862, 20: UBC 866, 21: UBC 873. M: marcador de peso molecular 1kb plus (Invitrogen®).

Cuadro 4. Secuencias de iniciadores seleccionados para la obtención de los patrones ISSR en 34 genotipos de jitomate.

INICIADOR	SECUENCIA (5' - 3')
ISSR 4	AGAGAGAGAGAGAGAGCTC
ISSR 5	ACACACACACACACACCTA
ISSR 6	ACACACACACACACACCTG
ISSR 7	AGAGAGAGAGAGAGAGCTG
ISSR 9	AGAGAGAGAGAGAGAGC
ISSR 10	GAGAGAGAGAGAGAGAT
UBC 820	GTGTGTGTGTGTGTGTC
UBC 822	TCTCTCTCTCTCTCA
UBC 823	TCTCTCTCTCTCTCC
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT
UBC 866	CTCCTCCTCCTCCTC
UBC 873	GACAGACAGACAGACA

Se realizaron las reacciones en cadena de la Taq ADN polimerasa (PCR por sus siglas en inglés Polymerase Chain Reaction) con doce iniciadores, para lo cual se aplicó el protocolo siguiente. En un tubo Eppendorf de 1.5 mL se agregaron

diferentes cantidades de ADN concentrado que oscilaron entre 2 y 16.6 μL , a las cuales se le adicionó la cantidad de agua destilada estéril necesaria calculada mediante la fórmula:

Volumen de agua para obtener una dilución de ADN a $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ = $(\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1} \text{ de ADN de la muestra original} * 2 \mu\text{L de ADN de la muestra original} / 10 \text{ ng, para obtener una dilución a } 10 \text{ ng de ADN} \cdot \mu\text{L}^{-1})$.

Posteriormente, para cada genotipo se marcó un tubo Eppendorf de 0.2 mL y se adicionó 2.5 μL del ADN diluido a $10 \text{ ng} / \mu\text{L}$ y en un tubo de 1.5 mL se preparó la mezcla de reacción en un volumen total de 25 μL . La mezcla de reacción estuvo formada por amortiguadores, enzima Taq ADN polimerasa (Invitrogen®) y el iniciador (Cuadro 5). Adicionalmente, 22.5 μL de la mezcla de reacción se colocaron en cada tubo y se incubaron en un termociclador Techne TC-412 bajo las condiciones de temperatura que se indican en el Cuadro 6.

Cuadro 5. Componentes de la mezcla de reacción en cadena de la Taq ADN polimerasa (PCR), para la obtención de los patrones ISSR.

Componentes de la mezcla	Volumen en μL
H ₂ O Grado Biología Molecular	5.2
DNTP's (500 μM)	10
Amortiguador de PCR (10X)	2.5
MgCl ₂ (50 mM)	3
Iniciador (10 ng/ μL)	1.5
Enzima (5 U/ μL)	0.3
ADN genómico (10 ng/ μL)	2.5
Total	25

Cuadro 6. Condiciones de temperatura de los ciclos de amplificación de la PCR (Reacción en Cadena de la Taq ADN Polimerasa), para la obtención de los patrones ISSR.

Fase	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)	Número de ciclos
Pre-desnaturalización	93	8	1
Desnaturalización	93	1	40
Alineamiento	*	1	
Extensión	72	1	
Extensión final	72	6	1

Los productos amplificados se separaron por electroforesis en geles de agarosa, teñidos con bromuro de etidio y se documentaron tal y como se señala en la sección de cuantificación y evaluación de la integridad del ADN. La comparación entre los genotipos se hizo evaluando las similitudes y las diferencias en los patrones de bandeo, asignando el valor 0 a la ausencia y 1 a la presencia de cada banda. Se cuantificó el número de bandas producto de la amplificación para cada iniciador, asignándose un número de acuerdo con la distancia de migración en el gel. Se realizó el registro de los patrones ISSR obtenidos con los 12 iniciadores para los 34 genotipos y con esa información se construyó una matriz básica de datos (MBD).

5.4.4 Análisis estadístico

Se realizó la selección de variables morfológicas a partir de la matriz de correlación de datos mediante la técnica de análisis de componentes principales. Los primeros vectores propios de este análisis identificaron las variables más importantes para explicar la variabilidad observada entre los genotipos evaluados usando PROC PRINCOMP de SAS Ver 9.1.3.

Con las variables estandarizadas seleccionadas previamente se realizó un análisis de agrupamiento mediante el uso de distancias euclidianas cuadradas y la varianza mínima de Ward para la construcción del dendrograma usando PROC CLUSTER y PROC TREE de SAS Ver 9.1.3. La altura de corte se determinó con base en el criterio cúbico de agrupamiento y la pseudoestadística T^2 de Hotelling (Johnson, 2002).

La metodología de análisis anterior se aplicó también a los datos moleculares utilizando la distancia genética de Bray-Curtis (1957) para obtener el dendrograma respectivo y poder compararlo contra el generado a partir de las variables morfológicas.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización morfológica

6.1.1 Análisis de agrupamiento

La selección de variables útiles en la discriminación de colectas se realizó con base en análisis de covarianzas sucesivo, con el fin de evitar la inclusión de caracteres que describiesen la misma variabilidad dentro del conjunto de observaciones, así como reducir la dimensionalidad de la matriz de datos (Johnson, 2000).

El procedimiento de análisis aplicado a los 48 descriptores evaluados, identificó como los más relevantes los siguientes: número de hojas bajo la primera inflorescencia, tipo de hoja, longitud de pétalos y sépalos, posición del estilo, longitud del estambre, número de racimos, número de hojas, diámetro del tallo en la parte media, longitud de la capa de abscisión, longitud del pedicelo, índice de redondez y peso del fruto, intensidad del color de la placenta y color de las semillas.

El análisis de agrupamiento fue realizado utilizando las distancias euclidianas elevadas al cuadrado, mientras que la construcción del dendrograma se realizó mediante el método de varianza mínima de Ward. La altura de corte se determinó a partir del criterio cúbico de agrupamiento (cambio en la tendencia) y de la pseudoestadística T^2 de Hotelling (primer valor menor que el 20 % del total de colectas estudiadas, que para este estudio corresponde a un valor de 6), con los

cuales se definió que el número de grupos a considerar fueron cuatro, con altura de corte de $0.55 r^2$ semiparcial (Figura 2).

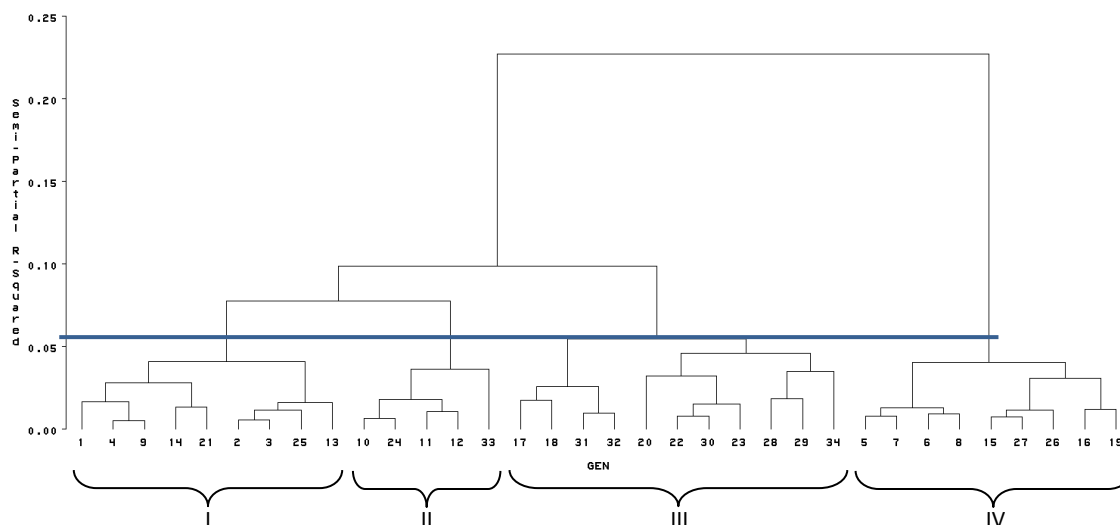


Figura 2. Dendrograma jerárquico de 34 colectas de jitomates nativos obtenido con distancias euclidianas elevadas al cuadrado y el método de mínima varianza de Ward.

6.1.2 Análisis Discriminante

Con la finalidad de verificar la relevancia de los caracteres utilizados en la conformación de los grupos generados en el análisis anterior, se realizó un análisis discriminante canónico, donde se consideró como variable categórica los cuatro grupos. A partir de este análisis, se determinó que con dos funciones discriminantes se describió 82 % de la variabilidad total observada al considerar los 16 descriptores seleccionados (Cuadro 6), con variación individual de 54 % y 28 %, así como valores propios de 8.7 y 4.5, respectivamente.

Cuadro 7. Valores propios de variables discriminantes con base en el análisis de cuatro grupos de colectas nativas de jitomate.

Variable discriminante	Valor propio	Proporción	Acumulada
VD1	8.7734	0.5425	0.5425
VD2	4.5378	0.2806	0.8231
VD3	2.8615	0.1769	1

VD1, VD2 y VD3: variable discriminante 1, 2 y 3, respectivamente. Diferente de cero con $\alpha \leq 0.01^{**}$

La estructura total canónica (Cuadro 8) muestra las correlaciones lineales entre las funciones discriminantes generadas y las variables originales del análisis. La variable discriminante uno (VD1) se correlacionó en forma positiva con las variables: longitud de la capa de abscisión y peso del fruto; y en forma negativa con índice de redondez del fruto e intensidad de color de la placenta; esto es, colectas con altos valores de VD1 presentaron mayor longitud de la capa de abscisión, frutos pesados y ovalados, tallos delgados y placenta de color claro, y viceversa. Con respecto a la variable discriminante dos (VD2), tuvo asociación positiva con posición de estilo, longitud del estambre, y número de racimos y hojas; es decir, colectas con altos valores de VD2 presentaron estilos salientes y estambres largos, así como mayor número de hojas y racimos (Cuadro 8).

Cuadro 8. Estructura total canónica de variables discriminantes definidas a partir de cuatro grupos de colectas de jitomates nativos.

Variable	Coeficiente canónico		Función discriminante	
	VD1	VD2	VD1	VD2
Constante			-1547	-1661
No. de hojas bajo la 1ra. inflorescencia	0.53	-0.5	49.51	47.54
Tipo de hoja	0.45	-0.16	-1.24	1.24
Longitud en cm de pétalos	0.34	0.48	21.18	75.18
Longitud en cm de sépalos	0.31	-0.02	-228.32	-249.9
Posición del estilo	-0.31	0.63	-11.46	1.12
Longitud en cm del estambre	0.04	0.7	1455	1432
Número de racimos	0.01	0.67	-25.73	-26.46
Número de hojas	0.08	0.71	8.88	9.55
Diámetro del tallo en la parte media	-0.58	-0.19	530.07	562.05
Longitud de la capa de absición	0.59	-0.19	141.21	115.59
Índice de redondez	-0.68	0.29	22.42	19.79
Peso	0.55	-0.22	4.29	4.7
Intensidad del color de la placenta	-0.58	0.31	101.31	99.81
Color de las semillas	-0.05	0.19	79.24	76

En la Figura 3 se representa la localización espacial de las colectas evaluadas con base en la VD1 (eje de las abscisas), VD2 (eje de las ordenadas), así como los grupos obtenidos a partir del análisis de agrupamiento (Figura 2). En el Cuadro 9 puede observarse que los grupos uno y dos estuvieron constituidos predominantemente por colectas con frutos tipo Cherry, para el caso del grupo tres no se observó una clara separación por tipo de fruto ya que éste estuvo conformado por colectas de ambos tipos; mientras que en el grupo cuatro se ubicaron colectas únicamente con frutos arriñonados

La prueba de resustitución para corroborar la pertinencia del agrupamiento obtenido resultó positiva, es decir, las unidades bajo estudio no fueron colocadas en grupos distintos a los definidos a partir del análisis discriminante.

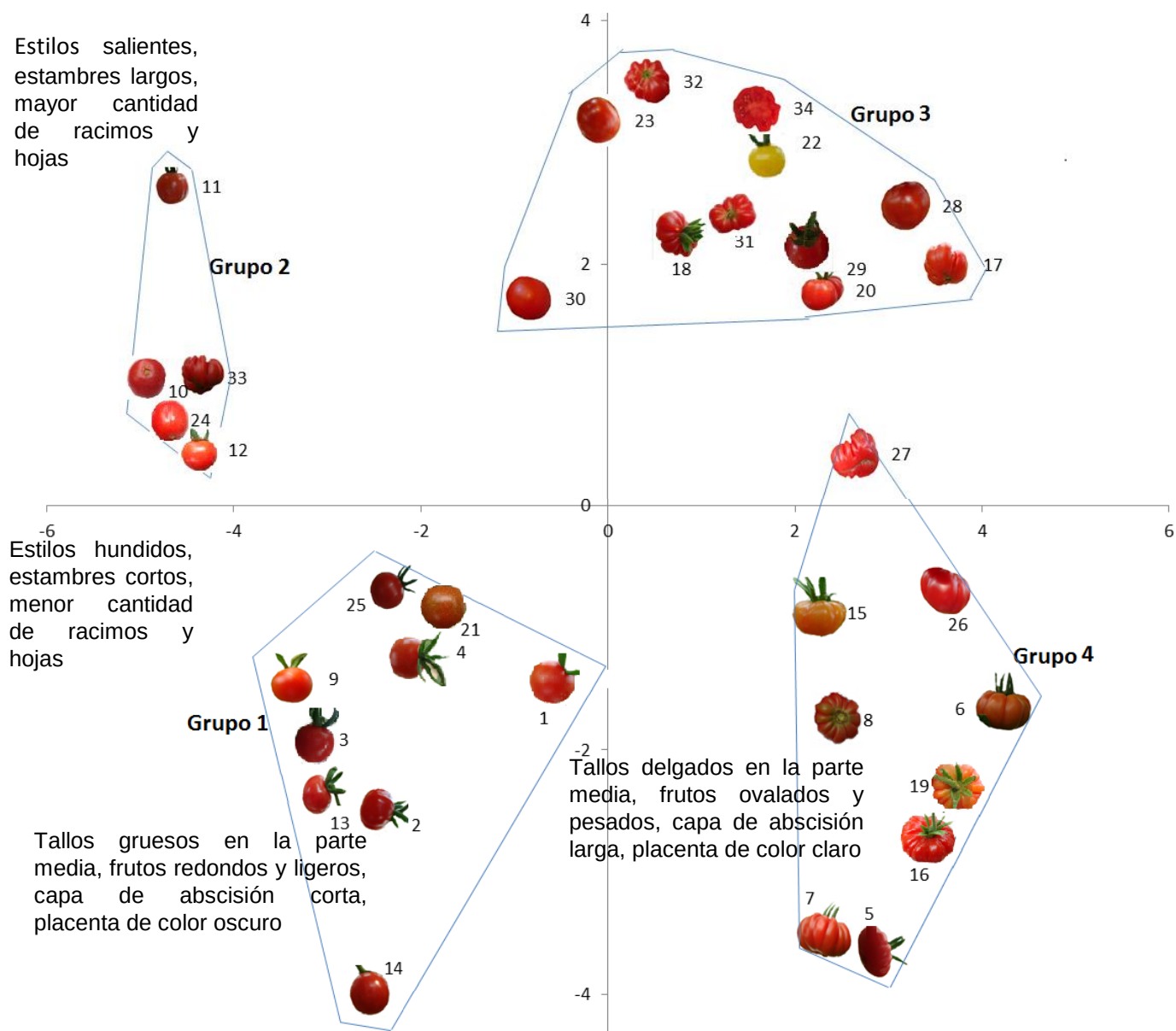


Figura 3. Representación gráfica de variables discriminantes de cuatro grupos de 34 colectas nativas de jitomates de acuerdo a sus características morfológicas.

Cuadro 9. Grupos de colectas nativas de jitomate obtenidos a partir de su caracterización morfológica.

Grupo	Frecuencia	Genotipo	Origen	Tipo	Características
1	9	1 Cereza 1	PUE	Cherry	Tallo grueso, frutos redondos y ligeros, capa de abscisión corta, placenta de color oscuro, menor número hojas y racimos, estambres cortos y estilos hundidos.
		4 Cereza 4	PUE	Cherry	
		9 Arriñonado	HGO	Cherry	
		14 Cimarrona 5	PUE	Cherry	
		21 Rojo	HGO	Cherry	
		2 Cherry	HGO	Cherry	
		3 Cereza 2	PUE	Cherry	
		25 Cherry	VER	Cherry	
		13 Cimarrona 4	PUE	Cherry	
2	5	10 Cimarrona 1	VER	Cherry	Tallo grueso, frutos redondos y ligeros, capa de abscisión corta, placenta de color oscuro, mayor número de hojas y racimos, estambres largos y estilos salientes.
		24 Cherry	CHIS	Cherry	
		11 Cimarrona 2	VER	Cherry	
		12 Cimarrona 3	PUE	Cherry	
		33 Riñón	PUE	Riñón	
3	11	17 Arriñonado 2	HGO	Riñón	Tallós delgados, frutos ovalados y pesados, capa de abscisión larga, placenta de color claro, menor número hojas y racimos, estambres cortos y estilos hundidos.
		18 Arriñonado 1	HGO	Riñón	
		31 Riñón	PUE	Riñón	
		32 Riñón	VER	Riñón	
		20 Arriñonado	HGO	Riñón	
		22 Arriñonado 4	HGO	Cherry	
		30 Cherry	PUE	Cherry	
		23 S/N-A	CHIS	Cherry	
		28 S/N-C	GRO	Cherry	
		29 S/N-D	GRO	Cherry	
4	9	34 Arriñonado-5		Riñón	Tallós delgados, frutos ovalados y pesados, capa de abscisión larga, placenta de color claro, mayor número de hojas y racimos, estambres largos y estilos salientes.
		5 Totonaca 1	PUE	Riñón	
		7 Totonaca 3	PUE	Riñón	
		6 Totonaca 2	PUE	Riñón	
		8 Totonaca 4	PUE	Riñón	
		15 Cuautomate	PUE	Riñón	
		27 S/N-B	CHIS	Riñón	
		26 Semi comercial	PUE	Riñón	
		16 Arriñonado 3	PUE	Riñón	
		19 Totonaca 5	PUE	Riñón	

Los grupos tres y cuatro se caracterizaron por poseer capa de abscisión larga y frutos pesados. Los grupos uno y dos se diferenciaron por tener capa de abscisión corta y frutos ligeros.

Los grupos dos y cuatro compartieron las características de frutos ovalados y placenta de color claro, mientras que los grupos uno y tres tuvieron en común colectas de frutos redondos y placenta de color oscuro.

Los análisis de varianza de los caracteres incluidos en los análisis multivariados (agrupamiento y discriminante), seleccionados mediante análisis de covarianzas sucesivas, mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos de colectas en nueve de los 16 caracteres considerados, ratificando con ello la selección de caracteres más relevantes para describir la variabilidad morfológica observada en las colectas evaluadas, los cuales fueron: diámetro del tallo en la parte media, longitud de la capa de abscisión, índice de redondez, peso del fruto, intensidad del color de la placenta, posición del estilo, longitud en cm del estambre, número de racimos y número de hojas (Cuadro 1A y 1B).

Quince descriptores no incluidos en los análisis multivariados mostraron también diferencias estadísticamente significativas entre grupos, los cuales fueron: longitud y ancho de la hoja principal, densidad foliar, diámetro del tallo en la parte alta, forma de fruto, diámetro 1 y 2 del fruto, ancho y largo del fruto, forma de la flor al final del fruto, condición final de la cicatriz de la flor, forma del fruto en corte transversal, tamaño de la placenta, número de lóculos y forma de la cicatriz del pistilo (Cuadro 1C). Cabe señalar al respecto que los análisis multivariados tienen

como objetivo reducir la dimensionalidad por lo que “sacrifican” variables que describen un mismo carácter.

Las comparaciones de medias correspondientes (Cuadros 2A y 2B) fueron realizadas con el programa estadístico SAS e indicaron un comportamiento acorde con la caracterización lograda en ambos agrupamientos debido a que las variables que fueron descartadas: longitud y ancho de la hoja principal, densidad foliar, diámetro del tallo en la base y en la parte alta, forma de fruto, diámetro 1 y 2 del fruto, ancho y largo del fruto, forma del hombro del fruto, forma de la flor al final del fruto, condición final de la cicatriz de la flor, forma del fruto en corte transversal, tamaño de la placenta, número de lóculos y forma de la cicatriz del pistilo (Cuadro 2C), se encuentran directamente relacionadas con las variables que sí fueron consideradas para los análisis multivariados, y describen principalmente características de flor y fruto, mismas que fueron determinantes para la separación de colectas.

Los pesos promedio de fruto obtenidos en este trabajo variaron entre 2.1 y 33.9 g, mientras que los diámetros de fruto oscilaron entre 1.5 a 4.2 cm. Al comparar estos resultados con estudios previos sobre diversidad genética de colectas de jitomate (Hernández, 1997; Constantino, 2001), se aprecia mayor variación registrada para ambos caracteres, lo cual sugiere que las colectas evaluadas en el presente trabajo representan una mayor variabilidad genética, que puede ser de gran utilidad para conservación y estudio de colectas nativas así como en pruebas para determinar su viabilidad como progenitores en un programa de mejoramiento de este cultivo.

6.2 Caracterización molecular

6.2.1 Análisis de patrones de marcadores ISSR

De los 21 iniciadores probados, nueve no produjeron amplificación, de los doce iniciadores restantes, nueve detectaron más de 60 % de polimorfismo entre materiales. En total se obtuvieron 85 bandas, 24 de las cuales fueron monomórficas; las 61 bandas polimórficas restantes tuvieron frecuencias alélicas mayores a 0.10 y menores a 0.94 (Cuadro 10).

Cuadro 10. Número de bandas amplificadas con 12 iniciadores en 34 colectas nativas de jitomate.

INICIADOR	SECUENCIA (5' - 3')	Productos amplificados		% de	% de bandas
		Totales	Polimórficos	Polimorfismo	monomórficas
ISSR 4	AGAGAGAGAGAGAGAGCTC	4	1	25	75
ISSR 5	ACACACACACACACACCTA	10	8	80	20
ISSR 6	ACACACACACACACACCTG	8	5	62.5	37.5
ISSR 7	AGAGAGAGAGAGAGAGCTG	7	4	57.2	42.8
ISSR 9	AGAGAGAGAGAGAGAGAGC	9	6	66.7	33.3
ISSR 10	GAGAGAGAGAGAGAGAT	6	6	100	0
UBC 820	GTGTGTGTGTGTGTGTC	9	6	66.7	33.3
UBC 822	TCTCTCTCTCTCTCTCA	6	6	100	0
UBC 823	TCTCTCTCTCTCTCTCC	4	4	100	0
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	4	4	100	0
UBC 866	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	9	4	44.5	55.5
UBC 873	GACAGACAGACAGACA	9	6	66.7	33.3
		85	60	71.0	

El número de bandas amplificado por iniciador ISSR osciló entre **4** y **10**, con promedio de **7**. En las figuras 4A, 4B y 4C se muestran los patrones de bandeo obtenidos mediante amplificación con los iniciadores ISSR 6, UBC 822 y UBC 873, respectivamente. En ellas pueden apreciarse claras diferencias en la presencia o ausencia de bandas entre las distintas colectas, lo cual sugiere la

existencia de diferencias genéticas entre las colectas nativas de jitomates evaluadas, obtenidas en distintos estados de la República Mexicana.

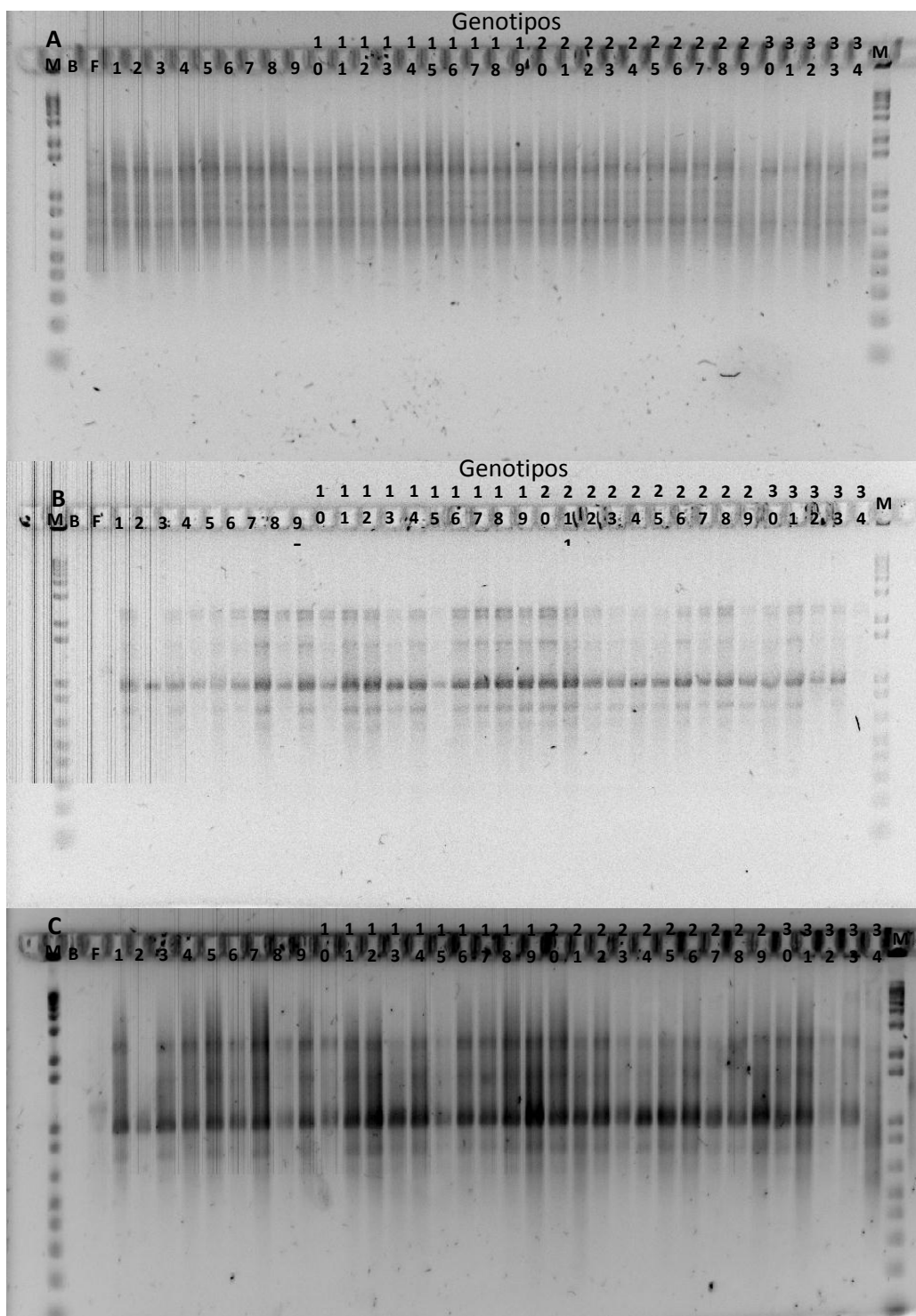


Figura 4. Patrones de bandas ISSR obtenidos con los iniciadores ISSR 10, UBC 822 y UBC 823 (A, B y C, respectivamente) de 34 colectas nativas de jitomate. M: Marcador de peso molecular 1 kb (Invitrogen®). B: Blanco, F: Frijol.

En el presente trabajo, el porcentaje total observado de loci polimórficos entre poblaciones fue de 71 %, resultado que contrasta con el obtenido por Aguilera *et al* (2011), quienes al evaluar 96 accesiones de jitomate con diez iniciadores generaron 144 bandas de las cuales sólo 53 fueron polimórficas, con promedio de 14.4 bandas por iniciador, lo cual representó únicamente 36.8 % de polimorfismo, es decir aproximadamente la mitad del obtenido en este estudio. Ellos encontraron que el iniciador UBC840-(GA)₈YT fue el que produjo mayor número de bandas polimórficas (13), mientras que en el presente trabajo el ISSR 5-(AC)₈CTA mostró el mayor número de bandas polimórficas (8). Otros investigadores que utilizaron ISSR para caracterizar accesiones de jitomate al utilizar un mayor número de iniciadores (14) incrementaron el polimorfismo específico hasta 95.6 % (Kochieva *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos en el presente estudio ratifican lo reportado por otros investigadores relativo a la utilidad de los marcadores ISSR para el estudio de la variabilidad genética en especies autógamas como el jitomate, las que debido a su forma de reproducción no son muy variables (Tikunov *et al.*, 2003; Bojinov y Danailov, 2009), ya que los ISSRs son altamente confiables, reproducibles, de rápido desarrollo y capaces de identificar polimorfismos útiles para el fitomejoramiento de este cultivo.

El dendrograma obtenido para las colectas evaluadas muestra una gran diversidad genética entre los grupos, sugerida por las disimilitudes entre ellos, resultado esperado debido a que se incluyeron colectas provenientes de varios estados de la República Mexicana. Las colectas genéticamente más alejadas fueron **29**

(Guerrero) y **32** (Riñón Misantla, Veracruz), mientras que las genéticamente más relacionadas fueron las colectas Cereza 2 y Cereza 4, ambas procedentes de Cuetzalan, Puebla.

La altura de corte se determinó a partir del criterio cúbico de agrupamiento (cambio en la tendencia) y de la pseudoestadística T^2 de Hotelling (primer valor menor que el 20 % del total de colectas estudiadas, que para este estudio corresponde a un valor de 6), con los cuales se definió que el número de grupos a considerar fueron seis, con altura de corte de $0.48 r^2$ semiparcial (Figura 5).

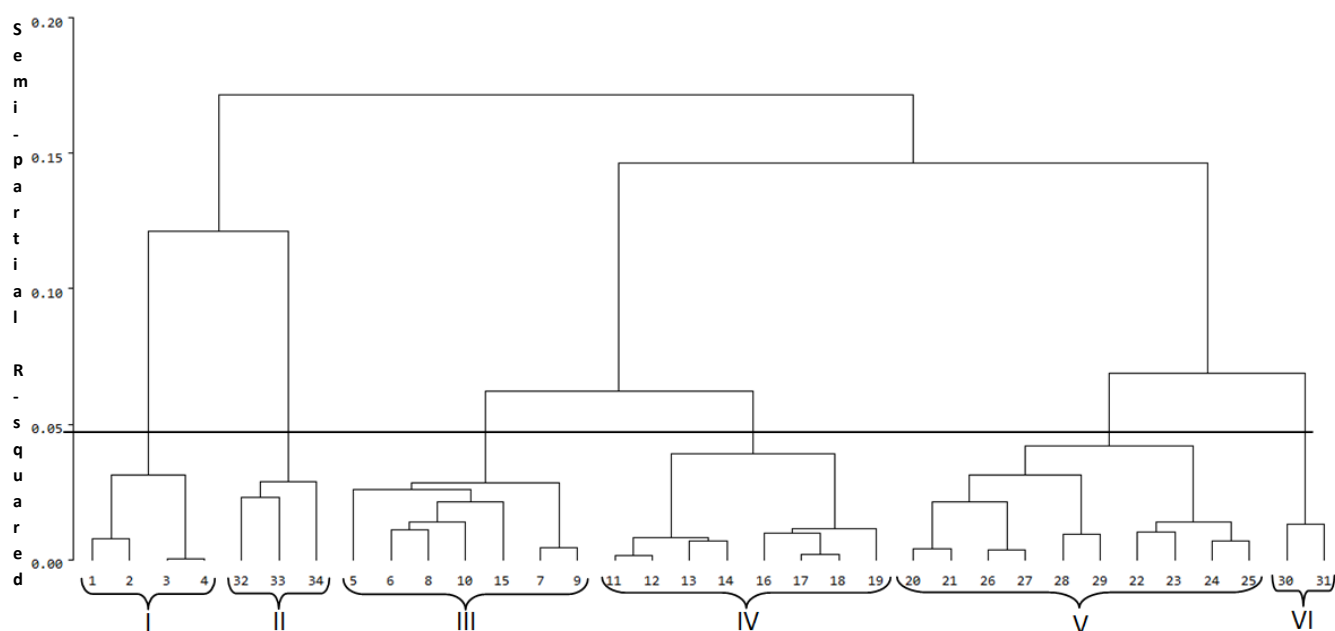


Figura 5. Dendrograma construido usando el índice de similitud de Bray-Curtis (1957) con los patrones de bandas ISSR de 34 colectas nativas de jitomate.

Si bien la mayoría de las colectas originarias de una región agrícola particular tendieron a agruparse juntas, también se observa la presencia de colectas

procedentes de otras regiones, este comportamiento se presenta prácticamente en todos los grupos.

Cuadro 11. Agrupación obtenida mediante la caracterización molecular.

Colecta	Nombre	Procedencia	Grupo
1	Cereza 1	Cuetzalan, Pue.	1
2	Cherry	Huautla, Hgo.	1
3	Cereza 2	Cuetzalan, Pue	1
4	Cereza 4	Cuetzalan, Pue	1
32	Riñón	Misantla, Ver.	2
33	Riñón 3	Tehuacán, Hgo.	2
34	Arriñonado	S/D	2
5	Totonaca 1	Ecatlán, Pue.	3
6	Totonaca 2	Ecatlán, Pue.	3
8	Totonaca 4	Tuzamapan de Galena, Pue.	3
10	Cimarrona 1	Zozocolco de Hidalgo, Ver.	3
15	Cuautamate	Xicotepec de Juárez, Pue.	3
7	Totonaca 3	Ecatlán, Pue.	3
9	Amarillo-Chamaquico	Machetla, Hgo.	3
11	Cimarrona 2	Zozocolco de Hidalgo, Ver	4
12	Cimarrona 3	Zozocolco de Guerrero, Huehuetla, Pue.	4
13	Cimarrona 4	Zozocolco de Guerrero, Huehuetla, Pue.	4
14	Cimarrona 5	Zozocolco de Guerrero, Huehuetla, Pue.	4
16	Arriñonado 3	Necaxa, Pue.	4
17	Arriñonado 2	Huautla, Hgo.	4
18	Arriñonado 1	Huautla, Hgo.	4
19	Totonaca 5	Tuzamapan de Galeana, Pue.	4
20	Arriñonado	Ixcatlán, Hgo	5
21	Rojo	Huautla, Hgo	5
26	Semi comercial	Ecatlán, Pue	5
27	S/Nb	Palenque, Chis.	5
28	S/Nc	Huitzuco, Gro.	5
29	S/Nd	Guerrero	5
22	Amarillo 4	Machetla, Hgo.	5
23	S/Na	Independencia, Chis.	5
24	Cherry	Comitán, Chis.	5
25	Cherry	Martínez de la Torre, Ver.	5
30	Cherry 1	Tehuacán, Hgo	6
31	Riñón 2	Tehuacán, Hgo.	6

6.3 Caracterización morfológica y molecular

Al comparar los agrupamientos de accesiones obtenidos a partir de datos morfológicos versus perfiles moleculares se observa que la mayoría de las 34 colectas nativas evaluadas, 22 de ellas (65 %) fueron ubicados dentro del mismo grupo genético (Cuadro 11), mientras que las 12 restantes no mostraron concordancia entre los agrupamientos, pues los marcadores moleculares fueron capaces de diferenciar dos grupos más en relación a los identificados a partir de caracteres morfológicos.

Cuadro 12. Comparación de las agrupaciones proporcionadas por los marcadores morfológicos y moleculares

MORFOLÓGICOS				
	I	II	III	IV
M O L E C U L A R E S	I 1 C Pue 2 C Hgo. 3 C Pue 4 C Pue			
	II	33 R Hgo	32 R Ver. 34 R S/D	
	III	9 C Hgo	10 C Hgo	5 R Pue. 6 R Pue. 7 R Pue. 8 R Pue. 15 R Pue.
	IV	13 C Pue 14 C Pue	11 C Ver 12 C Pue	17 R Hgo. 18 R Hgo. 16 R Pue. 19 R Pue.
	V	21 C Hgo. 25 C Ver.	24 C Chis. 20 R Hgo. 22 C Hgo. 23 C Chis. 28 C Gro. 29 C Gro.	26 R Pue. 27 R Chis.
	VI		30 C Hgo. 31 R Hgo.	

Nota: C: Fruto tipo Cherry R: Fruto tipo Riñón

Las colectas 1, 2, 3 y 4 con frutos tipo Cherry, provenientes de los Estados de Puebla e Hidalgo fueron agrupados por ambas clasificaciones dentro del grupo 1, mientras que la colecta 33 de fruto tipo riñón originaria de Puebla fue separada del resto de los materiales evaluados en ambas agrupaciones (grupo 2). Las colectas 16 y 19 también con tipo de fruto arriñonado y originarias del mismo Estado de Puebla, fueron separadas por ambas clasificaciones en el grupo 4.

Otra coincidencia en el agrupamiento de materiales se presentó en el caso de las colectas 5, 6, 7, 8 (correspondientes a los genotipos Totonaca 1, 2, 3, 4) y 15 (Cuautomate), todas ellas teniendo en común el presentar frutos arriñonados y originarias del Estado de Puebla.

Si bien en los dos casos anteriores las colectas agrupadas tuvieron en común el tipo de fruto y su origen geográfico, para el caso de las colectas 20 y 22 ambas de fruto arriñonado y originarias del Estado de Hidalgo, resultaron agrupadas por ambos criterios junto con las colectas 28 y 29 ambas de fruto tipo Cherry procedentes de Guerrero, lo cual indica que las colectas evaluadas probablemente compartan cierto grupo de genes, aunque no sean de igual genotipo.

Por lo que de manera general puede concluirse que la alta concordancia entre los agrupamientos realizados a partir de caracteres morfológicos y perfiles moleculares separando a las colectas de jitomates silvestres por tipo de fruto y origen geográfico, refleja la utilidad de los marcadores ISSR en estudios preliminares de variabilidad genética presente en colectas nativas para generar estrategias de uso dentro de programas de mejoramiento genético de este cultivo,

así como en la pertinencia de su conservación, puesto que existen materiales que comparten grupos en ambas caracterizaciones y con esta investigación se puede ayudar a la toma de decisiones para evitar materiales con las mismas características en bancos de germoplasma.

La exploración de la diversidad genética de jitomate a través del uso de marcadores ISSR resultó de gran utilidad para complementar a los descriptores morfológicos tradicionalmente empleados para dicho propósito, sobre todo debido a su rapidez, ya que a diferencia de algunos descriptores morfológicos no es necesario esperar a que la planta alcance una etapa fenológica específica para medirlos, por lo que su uso representan una excelente alternativa sobre todo cuando existe una caracterización morfológica previa, para comparar resultados y tener así mas elementos para decidir el empleo de los materiales evaluados.

VII. CONCLUSIONES

Con los registros obtenidos en el presente trabajo es posible establecer las bases para generar una estrategia de uso y conservación para esos materiales.

Existe variabilidad genética entre colectas de jitomate de diferente procedencia, ya que el 40% de los grupos estuvo formado por colectas provenientes de un mismo estado.

Los marcadores moleculares fueron eficientes para complementar la caracterización morfológica y diferenciar genotipos. En este trabajo, la utilización de ambos resultó de gran utilidad para corroborar de resultados debido a que presentaron alto nivel de afinidad ya que el 59 % de las agrupaciones coincidieron con ambas caracterizaciones.

VIII. LITERATURA CITADA

- AGUILERA, J. G.; PESSONI, L. A.; RODRIGUES, G. B.; ELSAYED, A. Y.; SILVA D. J. H.; DE BARROS E. G. 2011. Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.). Revista Brasileña de Ciencias Agrarias 6 (2): 243-252.
- BOJINOV, B. M.; DANAILOV, Zh. P. 2009. Applicability of ISSRs for genotype identification in a tomato breeding collection. Acta Horticulturae 830: 63-70.
- CONSTANTINO M., A. 2001. Comparación fenotípica de las variedades de jitomate silvestre y cultivada (*Lycopersicon esculentum* Mill) en el patosistema Chapingo, México. Tesis Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola. UACH. Departamento de Parasitología Agrícola. UACH.
- EIGENBRODE, S. D.; TRUMBLE, J. T.; JONES, R. A. 1993. Resistance to beet army worm (*Spodoptera exigua* [Hubner]), hemipterans, and *Liriomyza* spp. in *Lycopersicon*. Journal of the American Society of Horticultural Science 118: 525-530.
- GONZÁLEZ A., F. 2001. Caracterización morfológica. In: Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos. GONZÁLEZ, A. F.; PITA, V. J. M. (eds.). Publicaciones Instituto Nacional de Educación Agrícola. Valladolid, España. pp.199-217.

- HERNÁNDEZ M., J. 1997. Estudio de la germinación, producción, fenología y aspectos morfológicos de jitomate silvestre (*Lycopersicon esculentum* var. Cerasiforme Dun). Tesis Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia. Departamento de Fitotecnia. UACH.
- HOYT, E. 1992. Conservando los parientes silvestres de las plantas cultivadas. Traducido al español por FORERO, E. Addison-Wesley Iberoamericana. Delaware, Estados Unidos de America. 52 p.
- IPGRI. 1996. Descriptores para el tomate *Lycopersicon* spp. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia. 49 p.
- JOHNSON, D. 2000. Métodos Multivariados Aplicados al Análisis de Datos, Thompson Editores, México, D. F, pp. 93-396.
- KOCHIEVA E., Z.; RYZHOVAA, N. N.; KHRAPALOVA, I. A.; PUKHALSKIY, V. A. 2002. Genetic diversity and phylogenetic relationships in genus *Lycopersicon* (Torn) Mill. as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis. Russian Journal of Genetics 38 (8): 958-966.
- ORTEGA V., C. M. 2003. Producción orgánica de jitomates silvestres y domesticados (*Lycopersicon* spp) en invernadero en Chapingo, México. Tesis Maestría en Ciencias en Horticultura. UACH. Departamento de Fitotecnia.

- ORTEGA V., C. M.; RODRÍGUEZ O., A. 2000. Caracterización agronómica de materiales genéticos de jitomate silvestre (*Lycopersicon* spp) en la agricultura orgánica. Chapingo, México. Tesis Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola. UACH. Departamento de Parasitología Agrícola.
- PERALTA, I. E.; KNAPP, S.; SPOONER, D. M. 2005. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. Systematic Botany 30 (2):424-434.
- PÉREZ G., M.; MÁRQUEZ S., F.; PEÑA L., A. 1997. Mejoramiento Genético de Hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 380 p.
- RAO, R. V.; HODGKIN, T. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. Plant Cell Tissue and Organ Culture 68:1-19.
- ROBINSON, J.; HARRIS, S. A. 2000. A chloroplast DNA phylogeny of the genus *Acacia* Miller (Acacieae, Leguminosae). Botanical Journal of the Linnean Society. 132:195-222.
- SÁNCHEZ P., P.; OYAMA, K.; NÚÑEZ F., J.; FORMONI, J.; HERNÁNDEZ V., S.; MÁRQUEZ G., J.; GARZÓN T., J. A. 2006. Sources of resistance to whitefly (*Bemisia* spp.) in wild populations of *Solanum lycopersicum* var. Cerasiforme (Dunal). Genetic Resources and Crop Evolution 53(4): 711-719

SNICS. 2001. Guía Técnica para la descripción varietal de jitomate. SAGARPA. México. 32 p.

VARGAS C., D.; RODRÍGUEZ G., E.; SÁNCHEZ G., J. J.; MONTES H., S.; RUIZ C., A.; LÁPIZ I., R.; PUENTE O., P.; MARTÍNEZ R., J. L. 2005. Adaptación climática de *Lycopersicum* al occidente de México. Avances en la Investigación Científica en el CUCBA. Universidad de Guadalajara. México, pp. 207-210.

YU, M.; TIKUNOV, L.; KHRUSTALEVA, I.; KARLOV, G. I. 2003. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. Euphytica 131 (1): 71-81.

IX. ANEXO

Cuadro 1A. Análisis de varianza de caracteres que se incluyeron en los análisis multivariados.

FV	GL	NUHBPI	TIHOJ	LONPET	LONSEP	POSEST	LONES	NURAC	NUHOJ	DITM	LONCAB	LONP	PEFR	ICOCL	COSEM	IR
GRUPO	3	5.49 **	2.21	0.07 **	0.01	1.92 **	0.01**	64.06**	188.86	0.16**	0.08**	0.32	328.54 **	3.64**	0.1	0.05**
COL(GRUPO)	30	0.49	1.06	0.01	0	0.2	0	10.49	16.03	0.01	0.01	0.23	42.3	0.19	0.46	0
TOTAL	33															
CV		11.35	24.17	7.47	7.91	14.85	5.09	30.74	11.82	8.23	20.66	20.47	54.23	11.01	19.73	9.95
MEDIA		6.18	4.26	1.41	1.01	3.03	0.89	10.53	33.86	1.62	0.67	2.38	10.98	4.03	3.44	0.8

NUHBPI=NÚMERO DE HOJAS BAJO LA PRIMERA INFLORESCENCIA, TIHOJ=TIPO DE HOJA, LONPET=LONGITUD DE PETALOS, LONSEP=LONGITUD DE SÉPALOS, POEST=POSICIÓN DEL ESTILO, LONES=LONGITUD DEL ESTAMBRE, NURAC=NUMERO DE RACIMOS, NUHOJ=NUMERO DE HOJAS, DITM=DIAMETRO DEL TALLO EN LA PARTE MEDIA, LONCAB= LONGITUD DE LA CAPA DE ABSICIÓN, LONP=LONGITUD DEL PEDICELO, PEFR= PESO DEL FRUTO, ICOCL=INTENSIDAD DEL COLOR DE LA COLUMELA, COSEM=COLOR DE LAS SEMILLAS, IR= ÍNDICE DE REDONDEZ.

Cuadro 1B. Análisis de varianza de caracteres que definieron la separación en grupos de las colectas evaluadas.

FV	GL	DITM	LONCAB	IR	PEFR	ICOCL	POSEST	LONES	NURAC	NUHOJ
GRUPO	3	0.16**	0.08**	0.05**	328.54**	3.64**	1.92**	0.01**	64.06**	188.86
COL(GRUPO)	30	0.01	0.01	0	42.3	0.19	0.2	0	10.49	16.03
TOTAL	33									
CV		8.23	20.66	9.95	54.23	11.01	14.85	5.09	30.74	11.82
MEDIA		1.62	0.67	0.8	10.98	4.03	3.03	0.89	10.53	33.86

DITM=DIAMETRO DEL TALLO EN LA PARTE MEDIA, LONCAB= LONGITUD DE LA CAPA DE ABSICIÓN, IR= ÍNDICE DE REDONDEZ, PEFR= PESO DEL FRUTO, ICOCL=INTENSIDAD DEL COLOR DE LA COLUMELA, POEST=POSICIÓN DEL ESTILO, LONES=LONGITUD EN CM DEL ESTAMBRE, NURAC=NUMERO DE RACIMOS, NUHOJ=NUMERO DE HOJAS.

Cuadro 1C. Análisis de varianza de caracteres con significancia estadística que no fueron incluidos en los análisis multivariados.

FV	GL	LONHP	ANHP	DENFOL	DITA	FOFR	DIFR1	DIFR2	ANFR	LAFR	FOFFR	COFCF	FOFCT	TAMC	NUML	FOCP
GRUPO	3	0.33**	0.01**	2.2**	0.14**	31.87**	2.83**	3.05**	0.48*	2.84**	1.12**	1.35**	3.83**	1.4**	18.99**	3.76**
COL(GRUPO)	30	0.05	0	0.31	0.02	4.58	0.35	0.41	0.12	0.27	0.09	0.1	0.42	0.13	1.62	0.52
TOTAL	33															
CV		10.34	8.87	8.62	8.48	36.64	22.44	23.58	16.96	19.3	19.7	19.3	32.53	39.09	33.5	24.22
MEDIA		2.29	0.62	6.49	1.67	5.84	2.64	2.73	2.1	2.7	1.59	1.64	2	0.92	3.79	2.98

LONHP: LONGITUD DE LA HOJA PRINCIPAL, ANHP: ANCHO DE LA HOJA PRINCIPAL, DENFOL: DENSIDAD FOLIAR, DITA: DIAMETRO DEL TALLO EN LA PARTE ALTA, FOFR: FORMA DE FRUTO, DIFR1: DIAMETRO DE FRUTO 1, DIFR2: DIAMETRO DE FRUTO 2, ANFR: ANCHO DEL FRUTO, LAFR: LARGO DEL FRUTO, FOFFR: FORMA DE LA FLOR DEL FRUTO, COFCF: CONDICIÓN FINAL DE LA CICATRIZ DE LA FLOR, FOFCT: FORMA DEL FRUTO EN CORTE TRANSVERSAL, TAMC: TAMAÑO DE LA COLUMELA, NUML: NUMERO DE LOCULOS, FOCP: FORMA DE LA CICARIZ DEL PISTILO.

Cuadro 2A. Comparación de medias de caracteres que se incluyeron en los análisis multivariados.

Grupo	NUHBPI	TIHOJ	LONPET	LONSEP	POSEST	LONES	NURAC	NUHOJ	DITM	LONCAB	LONP	PEFR	ICOCL	COSEM	IR
1	5.8 b	4.0 a	1.3 b	1.0 a	2.7 bc	0.8 b	9.1 ab	31.8 b	1.7 b	0.6 ab	2.4 a	5.7 b	4.5 a	3.5 a	0.8 a
2	5.6 b	3.5 a	1.6 a	1.1 a	3.8 a	0.9 ab	10.6 ab	32.8 b	1.9 a	0.5 b	2.2 a	7.6 b	4.2 a	3.4 a	0.9 a
3	7.4 a	4.8 a	1.4 b	1.0 a	2.6 c	0.8 b	7.6 b	29.0 b	1.6 b	0.8 a	2.7 a	20.2 a	3.0 b	3.3 a	0.7 b
4	5.8 b	4.4 a	1.4 b	1.0 a	3.2 ab	0.9 ab	13.5 a	39.2 a	1.5 b	0.7 ab	2.2 a	10.3 b	4.2 a	3.5 a	0.8 a

NUHBPI: NÚMERO DE HOJAS BAJO LA PRIMERA INFLORESCENCIA, TIHOJ: TIPO DE HOJA, LONPET: LONGITUD DE PETALOS, LONSEP: LONGITUD DE SÉPALOS, POEST: POSICIÓN DEL ESTILO, LONES: LONGITUD DEL ESTAMBRE, NURAC: NUMERO DE RACIMOS, NUHOJ: NUMERO DE HOJAS, DITM: DIAMETRO DEL TALLO EN LA PARTE MEDIA, LONCAB: LONGITUD DE LA CAPA DE ABSICIÓN, LONP: LONGITUD DEL PEDICELO, PEFR: PESO DEL FRUTO, ICOCL: INTENSIDAD DEL COLOR DE LA COLUMELA, COSEM: COLOR DE LAS SEMILLAS, IR: ÍNDICE DE REDONDEZ.

Cuadro 2B. Comparación de medias de caracteres que definieron la separación en grupos de las colectas evaluadas.

Grupo	DITM	LONCAB	IR	PEFR	ICOCL	POSEST	LONES	NURAC	NUHOJ
1	1.7 b	0.6 ab	0.8 a	5.7 b	4.5 a	2.7 bc	0.8 b	9.1 ab	31.8 b
2	1.9 a	0.5 b	0.9 a	7.6 b	4.2 a	3.8 a	0.9 ab	10.6 ab	32.8 b
3	1.6 b	0.8 a	0.7 b	20.2 a	3.0 b	2.6 c	0.8 b	7.6 b	29.0 b
4	1.5 b	0.7 ab	0.8 a	10.3 b	4.2 a	3.3 ab	0.9 a	13.5 a	39.2 a

DITM: DIAMETRO DEL TALLO EN LA PARTE MEDIA, LONCAB: LONGITUD DE LA CAPA DE ABSICIÓN, IR: ÍNDICE DE REDONDEZ, PEFR: PESO DEL FRUTO, ICOCL: INTENSIDAD DEL COLOR DE LA COLUMELA, POSEST: POSICIÓN DEL ESTILO, LONES: LONGITUD EN CM DEL ESTAMBRE, NURAC: NUMERO DE RACIMOS, NUHOJ: NUMERO DE HOJAS.

Cuadro 2C. Comparación de medias de caracteres que separaron grupos y que no se incluyeron en los análisis multivariados.

Grupo	LONHP	ANHP	DENFOL	DITB	DITA	FOFR	DIFR1	DIFR2	ANFR	LAFR	FOHFR	FOFFR	COFCF	FOFCT	TAMC	NUML	FOCP
1	2.2 ab	0.6 ab	6.9 a	1.6 ab	1.7 b	4.1 b	2.1 b	2.2 b	1.9 b	2.2 b	1.7 b	1.8 a	1.9 a	1.3 b	0.6 b	2.7 b	2.4 b
2	2.4 ab	0.6 ab	6.8 a	1.7 a	1.9 a	4.8 b	2.5 b	2.5 b	2.2 ab	2.5 b	2.2 b	1.8 a	2.0 a	1.8 b	0.7 b	2.6 b	2.5 b
3	2.6 ab	0.7 ab	5.7 b	1.6 ab	1.6 b	8.6 a	3.5 a	3.6 a	2.4 a	3.6 a	4.8 a	1.0 b	1.0 b	2.9 a	1.5 a	6.0 a	3.9 a
4	2.1 b	0.6 b	6.5 a	1.5 b	1.6 b	5.8 ab	2.5 b	2.6 b	2.0 ab	2.6 b	2.7 b	1.7 a	1.7 a	2.0 b	0.9 b	3.7 b	3.0 ab

LONHP: LONGITUD DE LA HOJA PRINCIPAL, ANHP: ANCHO DE LA HOJA PRINCIPAL, DENFOL: DENSIDAD FOLIAR, DITB: DIAMETRO DEL TALLO EN LA BASE, DITA: DIAMETRO DEL TALLO EN LA PARTE ALTA, FOFR: FORMA DE FRUTO, DIFR1: DIAMETRO DE FRUTO 1, DIFR2: DIAMETRO DE FRUTO 2, ANFR: ANCHO DEL FRUTO, LAFR: LARGO DEL FRUTO, FOHFR: FORMA DEL HOMBRO DEL FRUTO, FOFFR: FORMA DE LA FLOR DEL FRUTO, COFCF: CONDICIÓN FINAL DE LA CICATRIZ DE LA FLOR, FOFCT: FORMA DEL FRUTO EN CORTE TRANSVERSAL, TAMC: TAMAÑO DE LA COLUMELA, NUML: NUMERO DE LOCULOS, FOCP: FORMA DE LA CICARIZ DEL PISTILO.