



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Departamento de Fitotecnia

Doctorado en Ciencias en Horticultura

DIVERSIDAD GENÉTICA EN JITOMATES

SILVESTRES (*Solanum sp.*) DEL SUR DE MÉXICO

T E S I S

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA**



P R E S E N T A:

COORDINACIÓN GENERAL ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
COMITÉ DE EXAMENES PROFESIONALES

NOÉ ALARCÓN CRUZ

CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, FEBRERO DE 2019.

DIVERSIDAD GENÉTICA EN JITOMATES SILVESTRES (*Solanum sp.*) DEL SUR DE MÉXICO

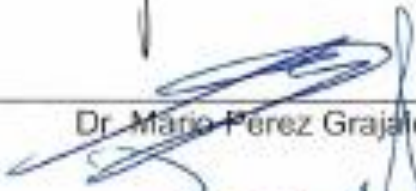
Tesis realizada por el **C. NOÉ ALARCÓN CRUZ**, bajo la dirección del Comité Asesor indicado; aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

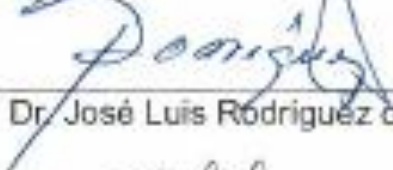
DIRECTOR:


Dr. Juan Porfirio Legaria Solano

ASESOR:


Dr. Mario Pérez Grajales

ASESOR:


Dr. José Luis Rodríguez de la O.

ASESOR:


Dr. Filemon Ramirez Pérez

LECTOR EXTERNO:


Dr. Manuel Martínez Piña

Chapingo, México, febrero de 2019

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por otorgarme la beca para realizar los estudios de Doctorado en Ciencias en Horticultura.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por la oportunidad que me dio para realizar mis estudios de posgrado.

Al Departamento de Fitotecnia por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de investigación.

Al Dr. Juan Porfirio Legaria Solano por dirigir el trabajo de tesis, por todo su apoyo y por los conocimientos aportados.

Al Dr. Mario Pérez Grajales por las asesorías y observaciones, por el tiempo dedicado y sus aportaciones para la elaboración de la presente tesis.

Al Dr. José Luis Rodríguez de la O por orientarme en el trabajo de tesis. Por las observaciones realizadas y por el tiempo dedicado.

Al Dr. Filemón Ramírez Pérez por sus valiosas aportaciones y observaciones, por el tiempo dedicado para la elaboración de la presente tesis.

A toda las personas que contribuyeron en la investigación.

DEDICATORIA

Como un pequeño tributo dedico esta tesis a quienes me dieron gran parte de su vida y esfuerzo al cuidarme cuando niño y a quienes no me alcanzaría la vida entera para pagarles todo lo que han hecho por mí, los quiero mucho padres Francisco Alarcón Peláez(†) y Simona Cruz Peláez.

A quienes son parte de mi vida y con quienes he compartido momentos maravillosos e imborrables desde niño, mis hermanos: Mauricio, Romeo, Santiago, Rocío, Ma. Magdalena y Efraín.

A Estrellita Carrera Malagón por ser el amor de mi vida y compañera inseparable en las buenas y en las malas.

A mi hija Natividad de Jesús Alarcón Carrera, las palabras no son suficientes para expresarte el amor incondicional que tengo por ti. Eres la mayor razón de mi alegría y de superación permanente.

A todas las personas que he conocido a lo largo de mi vida y que me han ayudado a crecer como ser humano.

Dios, quiero agradecerte todas las bendiciones que he recibido cada día de mi vida y las que recibo instante tras instante. ¡Muchas gracias!

Con todo mi afecto

Noé Alarcón Cruz

DATOS BIOGRÁFICOS

Noé Alarcón Cruz nació en el municipio de Acapulco, Guerrero, México, Km 30. Realizó sus estudios básicos en la Escuela 'Juan N. Álvarez' en el Km. 30 y sus estudios de secundaria en la Escuela Federal 'Cuauhtémoc' en la misma localidad. Sus estudios de Educación Media Superior los realizó en la Preparatoria # 2 perteneciente a la Universidad Autónoma de Guerrero; los estudios de nivel superior los llevó a cabo en la Universidad Autónoma de Guerrero, ubicada en la Ciudad de Chilpancingo de los Bravo, capital del Estado de Guerrero. Se graduó como Químico Biólogo Parasitólogo y como Biólogo, en la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, ubicada en la Ciudad de Chilpancingo, Guerrero. Sus trabajos de investigación han estado relacionados con el aislamiento e identificación de bacterias del género *Actinomicetales* de interés agronómico en la ciudad de Tixtla Gro., México; así como el estudio del potencial productivo de especies vegetales en la región 'Tierra Caliente' de Guerrero.

En el año 2009, egresó de la Maestría en Ciencias en Biotecnología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo. En el año 2014, fue seleccionado por el programa de Doctorado en Ciencias en Horticultura para realizar sus estudios de Doctorado en la Universidad Autónoma Chapingo y en enero del 2015 ingresó como estudiante de tiempo completo.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN GENERAL	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1. Taxonomía.....	6
2.2. Descripción de <i>Solanum lycopersicum</i> y condiciones de crecimiento.....	7
2.2.1. Características morfológicas.....	8
2.3. Nombres comunes del tomate	10
2.4. Requerimientos edáficos y climáticos.....	11
2.4.1. Suelo	11
2.4.2. Clima	11
2.5. Biología de la reproducción	13
2.6. Análisis de pigmentos	13
2.7. Análisis bromatológico.....	14
2.8. Citogenética	15
2.9. Producción del cultivo a nivel mundial	15
2.10. Producción de tomate en México.....	16
2.11. Marcadores moleculares	19
2.11.1. Descripción de la metodología ISSR para determinar marcadores moleculares	22
2.11.2. Técnicas para generar marcadores moleculares	24
2.11.3. Interpretación de las huellas de ADN para análisis filogenéticos.....	25
2.11.4. Antecedentes del uso de marcadores moleculares y morfológicos en el cultivo de tomate	25
2.12. LITERATURA CITADA	31

3. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE 145 ACCESIONES DE JITOMATE SILVESTRE (<i>Solanum</i> sp.) DEL SUR DE MEXICO.....	39
3.1. RESUMEN Y ABSTRACT.....	39
3.1.1. RESUMEN.....	39
3.1.2. ABSTRACT.....	39
3.2. INTRODUCCIÓN.....	40
3.3. MATERIALES Y MÉTODOS	42
3.3.1. Recolección de accesiones.....	42
3.3.2. Establecimiento del ensayo	43
3.3.3. Análisis estadístico de las variables morfológicas	45
3.3.4. Color de hoja y frutos y sólidos solubles	45
3.4. RESULTADOS	46
3.4.1. Análisis de variables morfológicas cuantitativas	48
3.4.2. Análisis de componentes principales con datos de variables cuantitativas	50
3.4.3. Análisis de conglomerados usando datos de variables cuantitativas.....	53
3.4.4. Análisis de componentes principales con datos de variables cualitativas	55
3.4.5. Análisis de conglomerados usando datos de variables cualitativas	56
3.5. DISCUSIÓN	57
3.6. CONCLUSIÓN.....	61
3.7. LITERATURA CITADA	61
4. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE JITOMATES SILVESTRES (<i>Solanum</i> sp.) DEL SUR DE MÉXICO	65
4.1. RESUMEN Y ABSTRACT.....	65
4.1.1. RESUMEN.....	65

4.1.2. ABSTRACT.....	66
4.2. INTRODUCCIÓN.....	66
4.3. MATERIALES Y MÉTODOS	68
4.3.1. Material vegetal.....	68
4.3.2. Lugar de desarrollo del experimento.....	69
4.3.3. Recolección de accesiones.....	69
4.3.4. Establecimiento del ensayo	70
4.3.5. Extracción de ADN	70
4.3.6. Análisis estadístico de marcadores moleculares	71
4.4. RESULTADOS	72
4.4.1 Análisis de iniciadores y construcción del dendrograma.....	72
4.4.2. Análisis de correspondencia	76
4.5. DISCUSIÓN	79
4.6. CONCLUSIÓN.....	81
4.7. LITERATURA CITADA	82
5. DISCUSIÓN GENERAL.....	84
5.1. LITERATURA CITADA	89
6. CONCLUSIONES GENERALES	91

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Temperaturas óptimas y críticas para el cultivo del tomate.....	12
Cuadro 2. Análisis bromatológico de 100g de tomate comestible.....	14
Cuadro 3. Países productores de tomate, producción, superficie cosechada y rendimiento.	16
Cuadro 4 Estadísticas de la producción de tomate rojo en México.....	17
Cuadro 5. Principales marcadores bioquímicos y moleculares utilizados para la identificación de especies vegetales en la última década.	20
Cuadro 6. Datos de pasaporte de las colecciones de jitomate silvestre.	44
Cuadro 7. Lista de descriptores cuantitativos y cualitativos evaluados durante la caracterización morfológica de accesiones de jitomate silvestre.	45
Cuadro 8. Valores mínimos y máximos de los caracteres evaluados en las accesiones de jitomates silvestres.....	48
Cuadro 9. Valores de correlación y nivel de significancia entre las variables cuantitativas evaluadas.....	49
Cuadro 10. Componentes principales, eigen-valores y porcentaje de variación explicada y acumulada en la formación de grupos de accesiones de jitomate silvestre usando datos de variables cuantitativas	50
Cuadro 11. Variables cuantitativas que determinan a los componentes principales y su valor de contribución.	51
Cuadro 12. Valores de correlación y nivel de significancia entre las variables cualitativas.	55
Cuadro 13. Componentes principales, eigen-valores, y porcentaje de variación explicada y acumulada en la formación de grupos de accesiones de jitomate silvestre usando datos de variables cualitativas.	55
Cuadro 14. Valor de contribución de variables morfológicas cualitativas a cada componente principal para la diferenciación de grupos de las colectas de jitomate silvestre.	56
Cuadro 15. Datos de pasaporte de las colecciones de jitomate silvestre.	68
Cuadro 16. Iniciadores utilizados para amplificar los patrones de bandas ISSR de 145 colectas de jitomate silvestre.	72
Cuadro 17. Análisis de correspondencia, dimensión (valor singular), inercia principal y porcentaje de variación explicada y acumulada en la formación de los grupos de accesiones de jitomate silvestre usando los patrones de bandeo ISSR.	76
Cuadro 18. Contribución de los Iniciadores al ordenamiento de las 145 colectas de jitomate silvestre.	77

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Producción de tomate rojo en México entre los años 2006-2016.	17
Figura 2.. Producción de tomate rojo en México entre los años 2006-2016.	17
Figura 3. Frutos maduros de jitomates silvestres recolectados en los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Puebla.	46
Figura 4. Variabilidad morfológica detectada en jitomates silvestres. A, diferencias en forma de las hojas; B, variabilidad de formas de fruto; C, variabilidad de colores de frutos y D, diferencias en tamaño de los frutos.	47
Figura 5. Grafica en dos dimensiones donde se observa los grupos formados por las colecciones de jitomates silvestres, utilizando datos de las variables morfológicas cuantitativas y cualitativas mediante un análisis de componentes principales separados.	51
Figura 6. Dendrograma de relaciones entre las 145 accesiones de jitomate utilizando el método de agrupamiento Neighbor Joining para variables cuantitativas y cualitativas separadamente.	54
Figura 7. Frutos maduros de jitomates silvestres recolectados en los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Puebla.	70
Figura 8. Patrones de bandas ISSR obtenidos utilizando un iniciador P3 en las 145 colectas de jitomate silvestre (<i>Solanum sp.</i>).	74
Figura 9. . Dendrograma construido con datos de marcadores ISSR en 145 colectas de jitomate silvestre (<i>Solanum sp.</i>), luego de 1000 remuestreos.	75
Figura 10. Ordenamiento de las colectas de jitomate silvestre en las dimensiones 1 y 2, utilizando datos de marcadores moleculares ISSR en un análisis de correspondencia con el programa NTSYS.	78
Figura 11. Ordenamiento de las colectas en 3 dimensiones, utilizando datos de marcadores ISSR en un análisis de correspondencia, con el programa NTSYS.	79

RESUMEN GENERAL

DIVERSIDAD GENÉTICA EN JITOMATES SILVESTRES (*Solanum sp*) DEL SUR DE MÉXICO

El grupo de plantas que forman parte de *Solanum* sect. *Lycopersicon*, es de gran importancia en México y el mundo por la extensión de su cultivo, demanda y forma de consumo, en este grupo se encuentra el jitomate domesticado y sus parientes silvestres. Lamentablemente, las variedades del jitomate cultivado se han generado a partir de una base genética estrecha y es afectado por numerosos factores bióticos y abióticos que limitan su producción. Aunado a esto, existe el problema de que las especies silvestres están en riesgo creciente de desaparecer, a causa de la sobreexplotación y a la pérdida de su hábitat, el estudio y conservación de las mismas son de vital importancia. En respuesta a lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue explorar la diversidad genética de 145 accesiones de jitomate silvestre, con el propósito de seleccionar genotipos con base en caracteres de interés agronómico y molecular. Se concluye que en la mayoría de las accesiones evaluadas, la variabilidad morfológica fue alta, a través del análisis multivariado, y que las variables cuantitativas área foliar, color de hoja, número de frutos, peso del fruto, color de fruto L, a, y b determinaron la formación de cuatro grupos o cluster. Por otro lado, las variables cualitativas más importantes que determinaron la diferenciación de las accesiones en dos grupos fueron el hábito de crecimiento, el color de fruto y la forma de fruto. Con la caracterización molecular se formaron seis grupos. Los iniciadores ISSR A4, P2, 7956, A7, P3, A8 y 7951 fueron efectivos para detectar polimorfismos genéticos con diferencias significativas entre las accesiones. Además, se observó que los jitomates rojos presentaron menos diferencias entre ellos, que entre los jitomates anaranjados, azules y amarillos. Las accesiones cuyos frutos son de color rojo estuvieron más emparentadas genéticamente con las especies *S. pimpinellifolium* y *S. esculentum* var *cerasiforme* de frutos rojos, que con las accesiones de la especie *S. cheesmanii* que produce frutos de color amarillo. Las accesiones sobresalientes para un programa de mejoramiento genético fueron: C200 (tipo bola, color rojo y tamaño grande de 90 a 95 gramos por fruto); C101 (tipo bola, color rojo, de 5 a 7 frutos por racimo y vida de anaquel de 45 días); C230 (tipo saladette, rojo intenso, frutos de 5°Brix y de un peso de 125 gramos), C231 (tipo bola, color rojo intenso, de 4 a 5 frutos por racimo un peso de 120 a 130 gramos); C76 (tipo bola, color amarillo y una vida de anaquel de 90 días y la accesión C85 (tipo uva de color rojo intenso, de 4 a 20 frutos por racimo de peso entre 5 a 10 gramos por fruto y °Brix de 8).

Palabras clave: marcadores ISSR, variabilidad genética, accesiones.

Tesis de Doctorado en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Noé Alarcón Cruz.

Director de tesis: Juan Porfirio Legaria Solano.

ABSTRACT

GENETIC DIVERSITY IN WILD TOMATOES (*Solanum sp.*) FROM THE SOUTH OF MEXICO

The group of plants that are part of *Solanum* sect. *Lycopersicon*, is of great importance in Mexico and the world by the extension of its cultivation, demand and form of consumption, in this group one finds the domesticated tomato and its wild relatives. Unfortunately, varieties of cultivated tomatoes have been generated from a narrow genetic base and are affected by numerous biotic and abiotic factors that limit their production. In addition, there is the problem that wild species are at increased risk of disappearing, because of overexploitation and loss of habitat, their study and conservation are vitally important. In response to the foregoing, the objective of this research was to explore the genetic diversity of 145 accessions of wild tomatoes, in order to select genotypes based on traits of agronomic and molecular interest. It is concluded that in most of the evaluated accessions, morphological variability was high, through multivariate analysis, and that quantitative variables foliar area, leaf color, number of fruits, fruit weight, fruit color B, color, number of fruits, weight of fruit, color of fruit L, a, and b, determined the formation of four groups or cluster. On the other hand, the most important qualitative variables that determined the differentiation of the accessions in two groups were the habit of growth, the color of fruit and the form of fruit. Six groups were formed with molecular characterization. The initiators ISSR A4, P2, 7956, A7, P3, A8 and 7951 were effective for detecting genetic polymorphisms with significant differences between accessions. In addition, it was observed that the red tomatoes showed less differences between them, than among the orange, blue and yellow tomatoes. The accessions whose fruits are red were more genetically related to the species *S. Pimpinellifolium* and *S. esculentum* var *cerasiforme* of red fruits, which with the accessions of the species *S. cheesmanii* that produces fruits of yellow color. The outstanding accessions for a breeding program were: C200 (ball type, red color and large size from 90 to 95 grams per fruit); C101 (ball type, red color, 5 to 7 fruits per bunch and shelf life of 45 days); C230 (type Saladette, intense red, fruits of 5 ° Brix and of a weight of 125 grams), C231 (type ball, intense red color, of 4 to 5 fruits per bunch a weight of 120 to 130 grams); C76 (ball type, yellow color and shelf life of 90 days and the accession C85 (type intense red grape, from 4 to 20 fruits per bunch of weight between 5 to 10 grams per fruit and ° Brix of 8)

Keywords: ISSR markers, genetic variability, accessions.

Doctoral Thesis in Sciences in Horticulture, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Noé Alarcón Cruz.

Thesis director: Juan Porfirio Legaria Solano.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los recursos fitogenéticos son la clave para la seguridad alimentaria y el desarrollo agrícola sostenible. Sin embargo, la diversidad de las plantas en la tierra se encuentra gravemente amenazada. Las especies silvestres están en riesgo creciente de desaparecer, a causa de la sobreexplotación y a la pérdida de sus hábitats. El hombre en la agricultura moderna ha tenido una relación con el medio ambiente en donde solo utilizan las nuevas variedades más homogéneas y de alto potencial de rendimiento, lo que conlleva a una erosión genética (Guarino *et al.*, 2008). Las colectas de la diversidad de los ecotipos locales se convierten en un requisito previo para garantizar la seguridad alimentaria. El jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza más cultivada y de mayor valor económico en el mundo, por su amplia adaptabilidad y rendimiento, genera importantes ingresos económicos a los agricultores que lo cultivan. Constituye el 30 % de la producción hortícola, con alrededor de 4, 782, 754 hectáreas sembradas y 177.042 millones de toneladas de frutos cosechados (FAO, 2016). Sin embargo, a pesar de lo anterior, actualmente existen numerosos factores bióticos y abióticos que limitan su producción (Esquinas, 2001). Una manera de mitigar este problema, consiste en la obtención de variedades resistentes a dichos factores mediante mejoramiento genético. Lamentablemente, durante el mejoramiento genético del jitomate se ha manejado una base genética estrecha lo que limita el éxito de los programas, debido a que muchas veces es difícil encontrar los genes de resistencia necesarios en las variedades cultivadas. Según Miller y Tanksley (1990) indican que la mayor diversidad del jitomate se encuentra en las especies silvestres, que presentan variabilidad en las características de calidad de fruto como tamaño sabor, aroma, color y textura. Por otro lado Vallejo (1999) reporta que la mayoría de las evidencias históricas, lingüísticas, arqueológicas y etnobotánicas indican que la región de Veracruz y Puebla, en México, es el centro de domesticación del tomate. Las formas silvestres de "tomate cereza", *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*, originarias del Perú, migraron a través del Ecuador, Colombia, Panamá y América Central hasta llegar a México,

donde fue domesticado por el hombre. Por lo que diversos autores (Rodríguez *et al.*, 2009; Chávez *et al.*, 2011) señalan que, en la actualidad es posible encontrar poblaciones nativas cultivadas en diferentes regiones agrícolas del país, así como poblaciones nativas no cultivadas; estas últimas están ampliamente distribuidas en reservas ecológicas en las que se encuentran asociadas con cultivos, principalmente con el maíz (*Zea mays*), en los cuales eventualmente se convierten en malezas. Esta distribución ha permitido a las poblaciones de tomate, desarrollar características especiales de adaptación medio ambientales muy específicas, que determinan la extensión de la variabilidad biológica de la especie (Ramanatha y Hodgkin, 2002; Álvarez *et al.*, 2009). No obstante su amplia distribución, hay poca documentación acerca del potencial genético y su aprovechamiento directo o como fuente de genes para el mejoramiento. En respuesta a toda esta problemática, la caracterización, conservación y uso del germoplasma silvestre de jitomate se inició en Estados Unidos desde 1930 y se ha acelerado hasta la actualidad (Rick, 1986), pero poco se ha hecho en México al respecto. Antes de promover su utilización en el mejoramiento, es necesario conocer la variabilidad genética que se conserva *in situ*. Para ello, la comunidad científica puntualiza la necesidad de caracterizar morfológica y molecularmente a las colecciones de germoplasma de jitomate, debido a la importancia de este tipo de investigaciones en los programas de mejoramiento genético. Por lo antes expuesto, a través de este estudio, se exploró la diversidad genética de 145 accesiones de jitomate silvestre, con el propósito de seleccionar genotipos con base en caracteres de interés agronómico y molecular, que sean útiles en los programas de mejoramiento genético del jitomate cultivado.

1.1. Objetivo general

Determinar la variabilidad morfológica y molecular existente en 145 colectas de jitomate silvestre (*Solanum sp.*) de Guerrero, Michoacán, Puebla y Oaxaca y las relaciones de parentesco entre ellas, mediante el empleo de marcadores morfológicos y moleculares tipo ISSR para identificar accesiones sobresalientes que sean de utilidad en un programa de mejoramiento genético.

1.2. Objetivos específicos

Caracterizar morfológicamente 145 colectas de jitomate procedentes de Guerrero, Michoacán, Puebla y Oaxaca., con la finalidad de detectar relaciones fenotípicas entre las mismas.

Determinar la variabilidad genética mediante marcadores ISSR para establecer agrupamientos entre genotipos de jitomate, originarios de Guerrero, Michoacán, Puebla y Oaxaca., México.

1.3. Hipótesis

Bajo las condiciones climáticas y geográficas de algunas regiones de Guerrero, Michoacán, Puebla y Oaxaca, se ha generado variabilidad genética en los materiales de jitomate, que permite identificar accesiones sobresalientes para un programa de mejoramiento genético.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Taxonomía

La clasificación filogenética de las solanáceas ha sido recientemente revisada y el anterior género *Lycopersicon* (Miller, 1754) se integró al nuevo género *Solanum* con su nueva nomenclatura. *Solanum* sección *lycopersicum* incluye al tomate cultivado (antes *Lycopersicon esculentum*) y 12 especies silvestres. *Solanum lycopersicum* es la única especie domesticada (Peralta *et al.*, 2006).

Ubicación taxonómica:

La posición del tomate según Esquinas y Nuez (2001) es:

División: Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: Solanum

Subgénero: Patatoe

Sección: Petota

Especie: *Solanum lycopersicum* Lin.

De acuerdo con Vallejo (1999), considerando los aspectos relacionados con el origen, domesticación y evolución del tomate cultivado, éste se originó en el Nuevo Mundo. Su centro de origen está localizado en una área geográfica pequeña de Suramérica, limitada al Sur por la latitud 30° (norte de Chile), al Norte por el Ecuador y el sur de Colombia, al Este por la Cordillera de los Andes y al Oeste por el Océano Pacífico, incluyendo el archipiélago de las Islas Galápagos. Esta estrecha faja de tierra tiene cerca de 300 km de longitud. Todas las especies silvestres relacionadas con el tomate son originarias de la región andina de Chile, Bolivia, Perú, Ecuador y Colombia, incluyendo también las Islas Galápagos. La mayoría de las evidencias (históricas, lingüísticas, arqueológicas y etnobotánicas) indican que la región de Veracruz y Puebla, en

México, es el centro de domesticación del tomate. Las formas silvestres de "tomate cereza", *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme, originarias del Perú, migraron a través del Ecuador, Colombia, Panamá y América Central hasta llegar a México, donde fue domesticado por los grupos indígenas. No existen evidencias que indiquen que el tomate fuera anteriormente conocido por los indios de América del Norte. Otro argumento que refuerza la ubicación del centro de domesticación es que ninguna forma de representación del tomate o parte de la planta, en la cerámica y utensilios primitivos, ha sido encontrada en los restos arqueológicos de la región andina. Además, el tomate no tiene un nombre nativo en las lenguas de los antiguos habitantes de los Andes. Por el contrario, en la lengua Nahuatl de México, era llamado "tomatl " que, sin lugar a dudas, dio origen al nombre actual de tomate. El tomate alcanzó un estado avanzado de domesticación en México, antes de ser conocido en Europa y Asia. Los herbarios europeos muestran descripciones y grabados de tomate solamente a partir de la segunda mitad del siglo XVI.

El nombre específico del tomate fue dado por Miller en 1788 citado por Vallejo (1999).

2.2. Descripción de *Solanum lycopersicum* y condiciones de crecimiento

El tomate es una planta perenne de aspecto arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta y su crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitado en las indeterminadas, pudiendo llegar en estas últimas a 10 m en un año (Rick, 1978).

La ramificación es simpodial, con lo que los ejes sucesivos se desarrollan a partir de la yema axilar del eje precedente y la yema terminal da lugar a la inflorescencia o a ramas abortivas. Las hojas son compuestas, imparipinadas con siete a nueve folíolos y una filotaxia de 2/5. La inflorescencia es un dicasio compuesto generalmente por cuatro a doce flores. El fruto es una baya de forma globular, ovoide o aplastada, cuyo peso oscila, según variedades, entre 5 y 500 g. Cuando la planta crece directamente de la semilla sin sufrir trasplantes desarrolla una potente raíz principal que le permite adaptarse a ecosistemas

semidesérticos, pero cuando la raíz principal se daña, como por ejemplo a consecuencia del trasplante, se existe una tendencia a desarrollar un sistema de raíces laterales adventicias (Chamarro, 1994).

El tomate puede crecer, florecer y fructificar en muchas condiciones ambientales que incluyen un amplio rango de latitudes, alturas, temperaturas, suelos y métodos de cultivo.

La temperatura es considerada un factor limitante del cultivo. La ideal es de 25 °C; por debajo de 15 °C y superiores a 35 °C, la germinación es afectada negativamente. Para el buen cuajamiento de frutos se requieren temperaturas diurnas de 24-25 °C y nocturnas de 18 °C. Temperaturas nocturnas excesivamente altas, superiores o iguales a 25 °C perjudican significativamente el cuajamiento de frutos y en consecuencia el rendimiento. La temperatura ideal para la formación del licopeno (pigmento rojo del fruto) es de 24 °C; en temperaturas elevadas (30 °C) se inhibe la formación de licopeno y se favorece la síntesis de caroteno (pigmento amarillo) dando lugar a frutos amarillos de pequeño valor comercial (Maluf, 1982). El exceso de lluvias constituye también un factor limitante porque favorece la incidencia de enfermedades. El fotoperiodo no tiene influencia alguna en el crecimiento y desarrollo del tomate (Chamarro, 1994).

2.2.1. Características morfológicas

De acuerdo con Vallejo (1999) se describen las características morfológicas. La semilla del tomate tiene forma lenticular con dimensiones aproximadas de 5 x 4 x 2 mm y está constituida por el embrión, el endospermo y la testa o cubierta seminal, la cual está recubierta de pelos. El sistema radical del tomate está constituido por la raíz principal, las raíces secundarias y las raíces adventicias. El tallo principal tiene 2-4 cm de diámetro en la base y está cubierto por pelos glandulares y no glandulares que salen de la epidermis. Forma de seis a doce hojas que crecen lateralmente, con una filotaxia de 2/5, antes de que la yema principal se transforme en una inflorescencia. El crecimiento sucesivo se produce a partir de la yema axilar de la última hoja, la cual desarrolla un tallo secundario que crece como una prolongación del tallo primario y desplaza

lateralmente la inflorescencia. Los sucesivos segmentos del tallo se desarrollan de forma similar, produciendo una inflorescencia cada tres hojas. El aspecto es el de un tallo principal, que crece de forma continua, con inflorescencias internodales laterales cada tres hojas. Cuando este proceso se repite indefinidamente los cultivares se denominan indeterminados y el pseudo tallo principal puede crecer más de 10 m por año, con un porte rastrero o trepador. Estos cultivares son apropiados para recolección continua ya que florecen y fructifican de forma regular y uniforme. Los brotes laterales, que se desarrollan en las axilas de las hojas, se eliminan y el tallo principal se amarra a una estaca o tutor. Los cultivares determinados tienen un crecimiento limitado que puede extenderse unos 2 m. Los segmentos sucesivos del eje principal soportan, de forma progresiva, un número inferior de hojas y terminan en una inflorescencia. El sistema de ramificación lateral presenta un crecimiento limitado dando a la planta un aspecto arbustivo con simetría circular que requiere de menos espacio que los cultivares indeterminados. La floración y la fructificación se producen en un período limitado, lo que provoca la concentración de la producción permitiendo efectuar la cosecha mecánica. Las hojas del tomate son pinnado compuestas. Una hoja típica de las plantas cultivadas tiene unos 0.5 m de largo, algo menos de anchura, con un gran foliolo terminal y hasta ocho grandes foliolos laterales, que pueden a su vez ser compuestos. Los foliolos son habitualmente peciolados y lobulados irregularmente con bordes dentados. Las hojas están recubiertas de pelos del mismo tipo que los del tallo. Las hojas del tomate son de tipo dorsiventral o bifacial. La flor del tomate es perfecta, regular e hipógina. El cáliz posee cinco o más sépalos verdes que se prenden al fruto incluso hasta después de la maduración. La corola está formada por cinco o más pétalos amarillos y encurvados cuando la flor está abierta. El número de estambres es de cinco, los cuales están soldados formando un cono. Las anteras son cortas y anchas. La flor está unida al eje floral por un pedicelo articulado que contiene la zona de abscisión, la cual se distingue por un engrosamiento. Durante la cosecha, la separación del fruto puede producirse por la zona de abscisión o por la inserción del fruto al pedicelo. En los frutos

que son utilizados para la industria, la presencia de parte del pedicelo es indeseable y por ello se prefieren las variedades en las que la separación se produce en la zona de unión al fruto. En determinadas condiciones ambientales desfavorables, la flor se separa de la planta antes de la apertura de los pétalos (aborto floral), en otros casos después de la apertura de los pétalos (caída de la flor), ocasionando grandes pérdidas de producción. Las flores tienden a agruparse en inflorescencias que pueden ser simples, bifurcadas o ramificadas. Las formas simples se presentan con mayor frecuencia en la parte inferior de la planta y las ramificadas en la parte superior. El número de flores por inflorescencia presenta mucha variación, habiéndose descrito algunas con más de 300 flores. Los frutos se presentan agrupados en racimos en número, tamaño y estado de maduración desiguales. El fruto es una baya, de forma y tamaño muy variables. Está compuesto por la película (epidermis o piel, pulpa, placenta y semillas. Internamente los frutos están divididos en lóculos, sitios donde se alojan las semillas inmersas en el mucílago placentario. De acuerdo con el número de lóculos, los frutos pueden ser bi, tri, tetra o pluriloculares. Frutos uniloculares son raros y los frutos maduros pueden ser rojos, rosados, anaranjados, verdes, azules o amarillos.

2.3. Nombres comunes del tomate

El nombre proviene de 'tomatl', en la lengua azteca náhuatl. Apareció por primera vez en una impresión en 1595. La palabra jitomate proviene del náhuatl 'xictomatl'; xictli= ombligo, tomohuac= gordura y atl= agua, por lo cual el significado de jitomate o xictomatl se podría traducir como ombligo de agua gorda. El jitomate ya se cultivaba 700 años a. C. en México antes de la llegada de los conquistadores españoles. Debe notarse que, aunque la palabra tomate viene del náhuatl tomatl, en el centro y sur de México el tomate rojo es conocido como jitomate. En el norte de México se conoce como tomate y aunque el nombre jitomate solo se usa para referirse a una especie de tomate muy grande y rojo, que da la apariencia de tener un ombligo, muchas personas lo llaman así para diferenciarlo de la variedad de tomate verde (*Physalis ixocarpa*) (que es diferente de un tomate rojo no maduro también de color verde). *Physalis*

ixocarpa pertenece a un género de la misma familia (*Solanaceae*) y subfamilia (*Solanoideae*) que el género *Solanum* (Esquinas y Nuez, 2001).

2.4. Requerimientos edáficos y climáticos

2.4.1. Suelo

Escalona *et al.* (2009) reportó que la rusticidad de la planta de tomate, permite que sea poco exigente a las condiciones de suelo. Sin embargo, debe tener un buen drenaje y aireación. De aquí la importancia de un suelo con alto contenido de materia orgánica. Prospera en diferentes tipos de suelo, siendo los más indicados, los suelos de textura franca o franco arcillosas; con contenidos de materia orgánica altos, en un rango de 4 a 5 %, y con buen contenido de nutrientes (Jaramillo *et al.*, 2006). Con las temperaturas entre los 15 y 25 °C se favorece un establecimiento óptimo del cultivo después del trasplante (Escalona *et al.*, 2009). La raíz principal corta y débil puede alcanzar hasta 60 cm de profundidad, mientras que las raíces secundarias son numerosas y fuertes. Las raíces adventicias se despliegan entre los 5 y 70 cm de la capa del suelo (Espinoza, 2009).

En cuanto al pH del suelo, el óptimo oscila entre 6 y 6.5 para que la planta se desarrolle y disponga de nutrientes de manera adecuada. Los suelos pueden ser desde ligeramente ácidos hasta ligera a medianamente alcalinos. Al respecto, es posible encontrar cultivos de tomate establecidos en suelos que presentan pH 8, siendo este un factor posible de manejar, ya que el tomate es la especie cultivada que mejor tolera las diferentes condiciones de pH.

Situación similar se observa respecto a la salinidad, tanto del suelo como del agua de riego, incluso en suelos arenosos, se pueden presentar conductividades superiores a 3 dS/m (Escalona *et al.*, 2009).

2.4.2. Clima

El jitomate se produce en una amplia gama de condiciones de clima y suelo, este tiende a prospera mejor en climas secos con temperaturas moderadas. Su rusticidad asociada a nuevas variedades permite al cultivo adaptarse en diferentes condiciones. No obstante, el tomate es una especie de estación

cálida y su temperatura óptima de desarrollo varía entre 18 y 30 °C (Cuadro 1). Por ello, el cultivo al aire libre se realiza en climas templados. Temperaturas extremas tienden a causar diversos trastornos, ya sea en la maduración, precocidad además del color. Temperaturas bajo 10 °C afectan la formación de flores y temperaturas mayores a 35 °C pueden afectar la fructificación. Asimismo, la temperatura nocturna es determinante en la producción, ya que cuando es inferior a 10 °C origina problemas en el desarrollo de la planta y frutos, provocando deformidades.

Cuadro 1. Temperaturas óptimas y críticas para el cultivo del tomate.

Efecto en el desarrollo		Temperaturas críticas para el cultivo del tomate
Se huela la planta		- 2 °C
Detiene su desarrollo		10-12 °C
Desarrollo normal de la planta		18-25 °C
Mayor desarrollo de la planta		21-24 °C
Germinación óptima		25-30 °C
Temperaturas óptimas		
Desarrollo	Diurno	23-26 °C
	Nocturno	13-16 °C
Floración	Diurno	23-26 °C
	Nocturno	15-18 °C
Maduración		15-22 °C

No obstante, se debe considerar que los valores de temperaturas por sí solos son referenciales, puesto que su interacción con otros factores repercute mayormente. Por ejemplo, la combinación de altas temperaturas con humedad baja, tiende a generar aborto floral y baja viabilidad del polen. Con lo referente a la humedad relativa, el desarrollo del tomate requiere que ésta oscile entre 60 y 80 %, considerando que humedades relativas muy elevadas favorecen el desarrollo de enfermedades fungosas y bacterianas que, además, dificultan la fecundación debido a que el polen se compacta abortando parte de las flores. También se vincula al agrietamiento del fruto o “rajado”, cuando se presenta un período de estrés hídrico, seguido de un exceso de humedad en el suelo por riego abundante (Escalona *et al.*, 2009).

2.5. Biología de la reproducción

La estructura floral del tomate es perfecta, regular e hipogina con 5 o más sépalos e igual número de pétalos de color amarillo y dispuestos helicoidalmente a intervalos de 135°. Igual número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo. Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racimoso y presentan una disposición que favorece la autofecundación y por lo tanto es una especie autógena. El porcentaje de cruzamiento natural es generalmente inferior al 5 %, realizado principalmente por insectos o el aire. El estigma es receptivo al polen uno o dos días antes de la dehiscencia de las anteras y permanece así cuatro a ocho días después de la antesis. La polinización se produce generalmente en el momento de la antesis. El polen es liberado por las hendiduras laterales de las anteras en el interior del cono y, desde que las flores estén en pendiente (posición normal), es conducido por gravedad a la boca del tubo formado por las anteras donde se encuentra el estigma, garantizando de esta manera la autofecundación. La transferencia de los granos de polen al estigma depende de la longitud del estilo y para que se produzca autofecundación, el estigma debe estar situado a la altura del cono de anteras o por debajo de él. En especies silvestres autoincompatibles o cultivares primitivos, donde el estigma se sitúa por fuera del cono de anteras, el porcentaje de alogamia alcanza valores por arriba del 10% (Melo, 1989). Cuando el polen alcanza el estigma, el tubo polínico empieza a crecer durante la primera hora y a 25 °C puede alcanzar el micrópilo del óvulo en 18 horas y fecundar la mayoría de los óvulos antes de las 30 horas (Chamarro, 1994).

2.6. Análisis de pigmentos

En lo que concierne a la pigmentación de los frutos, para el consumidor el color es un indicador importante de la calidad gustativa y como parámetro de calidad. El color de los tomates rojos depende básicamente de su contenido en licopeno y en menor medida de β - carotenos. Ambos pigmentos carotenoides se biosintetizan a partir del fitoeno. Actualmente se han utilizado mutantes como el

hp (high pigment) para incrementar el contenido de clorofila y la síntesis de fitoeno y por consiguiente de carotenoides totales. El mutante *ogc (crimson old gold)* a incrementa la cantidad de licopeno a expensas de β -caroteno teniendo una al aceptación para la industria y consumo en fresco (Nuez, 1995). Por otro lado Maluf (1982) menciona que la temperatura ideal para la formación del licopeno (pigmento rojo del fruto) debe ser de 24 °C; en temperaturas elevadas por arriba de los (30 °C) se inhibe la formación de licopeno y se favorece la síntesis de caroteno (pigmento amarillo) dando lugar a frutos amarillos de menor valor comercial.

2.7. Análisis bromatológico

El valor nutritivo del tomate presenta valores bajos. Según estudio realizado por Stevens (1974) citado por Vallejo (1999), sobre el valor nutricional de las principales frutas y hortalizas, el tomate ocupa el lugar 16 en cuanto a concentración relativa de un grupo de diez vitaminas y minerales; sin embargo, su popularidad, demostrada por su alto consumo, lo convierte en una de las principales fuentes de vitaminas y minerales a nivel mundial.

Nuez *et al.* (2001), constituyeron una tabla con el valor nutricional de 100 g de tomate, cuyos resultados se exponen en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Análisis bromatológico de 100g de tomate comestible.

Valor nutritivo del tomate

Residuos	6.0%	Caroteno	0.5 mg
Materia Seca	6.2 g	Tiamina	0.06 mg
Energía	20.0 Kcal	Riboflavina	0.04 mg
Proteínas	1.2 g	Niacina	0.06 mg
Fibra	0.7	Vitamina C	23.00 mg
Calcio	7.0 mg	Valor Nutritivo Medio (VNM)	2.39
Hierro	0.6 mg	VNM por 100g de Materia Seca	38.5

Fuente: Nuez *et al.* (2001).

2.8. Citogenética

El tomate es una de las especies más estudiadas desde el punto de vista genético. Todas las especies del género *Solanum* presentan aproximadamente 35,000 genes organizados en doce pares de cromosomas ($2n= 2x = 24$), que son esencialmente homólogos. El genoma se caracteriza por presentar pocas alteraciones estructurales en los cromosomas, heterocromatización de ciertos *loci* cromosómicos, localización definida de los genes en los cromosomas concentrados más en las regiones proximales que en las distales, distribución definida de los genes en los cromosomas, localización en diferentes cromosomas de gran cantidad de genes que controlan caracteres similares y presencia de súper bloques de genes ligados que controlan importantes funciones fisiológicas (Vallejo, 1994).

De acuerdo con Jones y Scott (1983), se conocen más de 1,000 genes y cerca de 258 han sido mapeados y localizados en los cromosomas con gran precisión. La posición del centrómero también ha sido bien establecida. El tomate es una especie que presenta muchas ventajas para realizar estudios citogenéticos debido a las siguientes razones:

La variabilidad genética natural es muy expresiva en las especies relacionadas. El alto porcentaje de autopolinización de la planta conduce a una rápida expresión de las mutaciones recesivas.

Presenta facilidad para realizar cruzamientos controlados que producen gran cantidad de semillas por fruto.

El cultivo de la planta no presenta mayores problemas y posee un ciclo de vida corto.

El paquiteno meiótico facilita la identificación de cada uno de los doce cromosomas y de sus brazos correspondientes por lo que son útiles en estudios citogenéticos.

2.9. Producción del cultivo a nivel mundial

Los reportes sobre el desarrollo del cultivo a nivel mundial corresponden al año 2016 (Cuadro 3). China fue el país con la mayor producción de tomate en el

mundo, con el 31.8 % del total. Le siguieron India con 10.4 %, Estados Unidos con 7.4 %, Turquía con 7.1 % y Egipto con 4.5 %. Sin embargo, es importante señalar que no existe una relación directa entre la mayor producción y la superficie cosechada como se indica a continuación. China fue el país con la mayor superficie cosechada de tomate en el mundo, con el 20.9 % del total. Le siguieron India con 15.9 %, Nigeria con 12.0 %, Egipto con 4.2 % y Turquía con 3.9 %. Finalmente, los Países Bajos y Bélgica fueron los países con el mayor rendimiento promedio de tomate en el mundo, con 13.7 veces por encima de la media mundial. Le siguieron Reino Unido con 11.2 veces, y Finlandia y Suecia con 9.9 veces (FAO, 2016).

Cuadro 3. Países productores de tomate, producción, superficie cosechada y rendimiento.

País	Producción (Ton)	País	Superficie cosechada (Ha)	País	Rendimiento (Ton/Ha)
China	56,308,914	China	999,312	Países Bajos	507.0
India	18,399,000	India	760,000	Bélgica	506.9
Estado Unidos	13,038,410	Nigeria	574,441	Reino Unido	416.2
Turquía	12,600,000	Egipto	199,712	Finlandia	366.0
Egipto	7,943,285	Turquía	188,270	Suecia	365.5
Italia	6,437,572	Irán	159,123	Islandia	359.0
Irán	6,372,633	Estados Unidos	144,410	Dinamarca	352.7
España	4,671,807	Rusia	118,451	Irlanda	333.3
Brasil	4,167,629	Italia	103,940	Noruega	318.3
México	4,047,171	México	93,376	Austria	310.0

Fuente: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2016).

2.10. Producción de tomate en México

De acuerdo con información del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2016), la producción de tomate rojo en México creció a una tasa promedio anual de 4.8 por ciento entre 2006 y 2016, para ubicarse en un volumen máximo histórico de 3.3 millones de toneladas. Entre 2012 y 2016 se registró una mayor proporción de la superficie establecida de este cultivo con tecnologías de agricultura protegida (malla sombra e invernaderos), en promedio de 26 por ciento de la superficie total. Así, durante ese período, en cultivos con ese tipo de tecnología se produjo en promedio el 58 por ciento de la producción total nacional. Durante los cinco años previos (2007-2011), la proporción de la superficie sembrada con agricultura protegida fue de 8 por

ciento del total, en tanto que la producción obtenida representó el 24 por ciento del total. La información que aparece respecto a México, para la última década con datos publicados, de 2007 a 2016 (Cuadro 4), indica lo siguiente: la producción obtenida de tomate en México aumentó un 38.1 %, presentando un crecimiento constante en los últimos años (Figura 1). Sin embargo, durante dicho período la superficie disminuyó un 22.2 %, aunque con ligeros altibajos, Durante dicho período el rendimiento aumentó un 74.4 %, con algunas oscilaciones pero con un crecimiento más o menos constantemente al final de la década evaluada (SIAP, 2016).

Cuadro 4. Estadísticas de la producción de tomate rojo en México.

Año	Producción (Ton)	Superficie (Ha)	Rendimiento (Ton/Ha)
2007	2,425,403	66,635	37.4
2008	2,263,202	57,248	40.5
2009	2,043,875	53,573	39.0
2010	2,277,791	54,511	43.7
2011	1,872,482	53,780	41.7
2012	2,838,370	55,888	51.4
2013	2,694,358	48,234	57.2
2014	2,875,164	52,375	56.4
2015	3,098,329	50,596	62.3
2016	3,349,154	51,861	65.3

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2016).

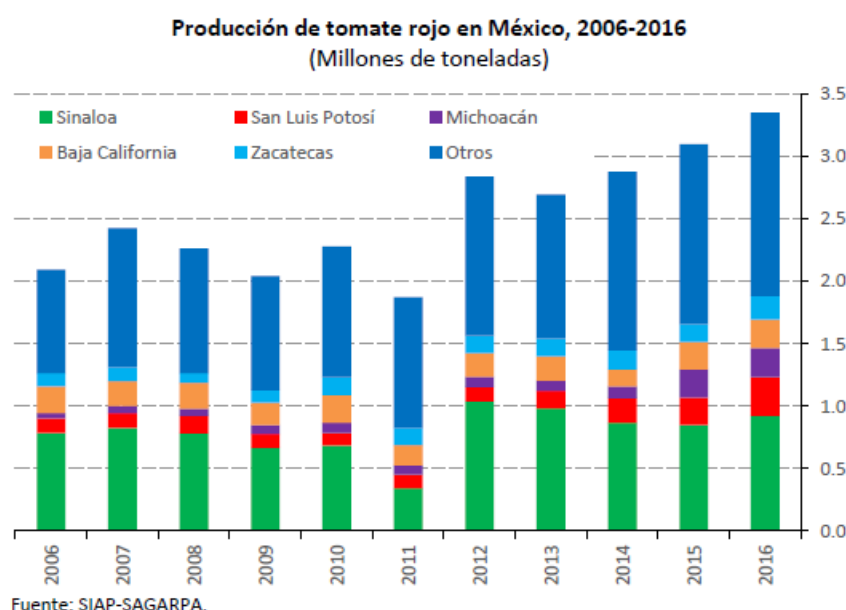


Figura 1. Producción de tomate rojo en México entre los años 2006-2016.

En 1980, año a partir del cual se tienen registros, se sembraron 85,500 hectáreas, en 2000 se sembró un área de 75,900 hectáreas y en 2016, 51,861 hectáreas. Por tecnología de cultivo, el comportamiento de la superficie destinada a esta hortaliza es diferente en campo abierto y en agricultura protegida. En el primer caso, la superficie sembrada se redujo a una tasa promedio anual de 5.6 por ciento entre 2006 y 2016, al pasar de 65,431 a 36,855 hectáreas. La disminución de la superficie cultivada en esta modalidad de cultivo ha sido mayor en algunas entidades como Sinaloa, Veracruz, Nayarit y Baja California. Por otra parte, la superficie establecida con agricultura protegida (malla sombra e invernadero) pasó de 1,078 a 15,006 hectáreas en el período mencionado, es decir, creció a una tasa promedio anual de 30.1 por ciento. El cultivo en agricultura protegida se concentra en Sinaloa, Baja California y San Luis Potosí, aunque también ha adquirido mayor importancia en otras entidades como Jalisco, Coahuila, Sonora, Puebla, Baja California Sur, Guanajuato, Estado de México, Oaxaca y Querétaro. De esta forma, el volumen producido de tomate a campo abierto disminuyó a una tasa promedio anual de 3.9 por ciento entre 2006 y 2016, mientras que la producción obtenida en agricultura protegida creció a una tasa promedio anual de 31.1 por ciento. Finalmente, se reporta que la producción de tomate está altamente concentrada; en cinco entidades se produjo el 56.3 por ciento del total nacional en 2016: Sinaloa (27.6 %), San Luis Potosí (9.2 %), Michoacán (7.0 %), Baja California (6.7 %), y Zacatecas (5.7 %). También destacan Jalisco (4.7 %), Baja California Sur (4.0 %) y Sonora (3.8 por ciento). Además se reporta que en 2016, la producción de tomate Saladette representó el 79.4 % del total de la producción de tomate en México, el tomate bola el 17.2 % y el tomate cherry el 3.2 por ciento. Asimismo, en Querétaro, Estado de México, Chihuahua y Zacatecas se obtienen los rendimientos más altos en la producción de tomate. A lo anterior contribuye, además del avance en el cultivo en invernaderos, la eficiente aplicación de programas de control de plagas y enfermedades.

2.11. Marcadores moleculares

En la última década, el uso de marcadores de ADN para el estudio de la diversidad genética de los cultivos ya es rutinario y está revolucionando la Biología, incrementando el desarrollo de técnicas de más precisión, rapidez y bajo costo para evaluar la variación genética (Karp *et al.*, 1997). Esto se ve reflejado en la enorme variedad de técnicas que están emergiendo para su análisis (Whitkus *et al.*, 1994). Estas técnicas pueden diferir de manera importante con respecto a características tales como la abundancia genómica necesaria, nivel de polimorfismo detectado, *locus* específico, reproducibilidad, requerimientos técnicos e inversión financiera. Es importante mencionar que ningún marcador es superior a todos para un amplio rango de aplicaciones. El marcador más apropiado dependerá de la aplicación específica, el nivel de polimorfismo, la presencia de suficientes facilidades técnicas y de conocimiento, necesidades de tiempo y limitaciones financieras. Las principales tecnologías de marcadores que se están aplicando durante la última década se indican en el Cuadro 5.

En los organismos vivos existe una amplia variedad de formas morfológicas que los distinguen entre sí. Esta variabilidad o polimorfismo genético, ocurre en forma natural dentro y entre diferentes poblaciones de organismos. Cualquier diferencia genética detectable en los individuos sirve como una etiqueta o marcador genético que se convertirá en un rasgo característico propio de cada individuo o de cierto grupo de individuos (Mendoza – Herrera y Simpson, 1996). Se conocen dos clases de marcadores genéticos, siendo éstos los morfológicos y los moleculares (Tanksley, 1983). Sin embargo, antes de los moleculares una segunda generación de marcadores son los bioquímicos, estos pueden ser representados por los metabolitos secundarios, proteínas estructurales, isoenzimas o enzimas (Mendoza- Herrera y Simpson, 1996). Las isoenzimas son moléculas de proteínas cargadas diferencialmente y que pueden separarse utilizando procedimientos de electroforesis, mediante geles de almidón y la tinción histoquímica de las proteínas. En términos generales se dice que las isoenzimas son formas moleculares múltiples de proteínas dentro de un

organismo que catalizan una misma reacción y que el efecto de una modificación alélica puede ser detectado con certeza, debido a un cambio de movilidad electroforética (Staub et al., 1996).

Las características principales de las isoenzimas incluyen la simplicidad, cantidad mínima de material en estudio, bajo costo y una cobertura del genoma de 10 – 20 *loci* por especie, ausencia de epistasis y presencia de influencias ambientales, este aspecto es de vital importancia ya que éstas proteínas pueden ser afectadas cualitativa y cuantitativamente en su nivel de expresión por factores ambientales; por lo tanto, para mejorar la técnica deben ser identificados los estados de desarrollo de las plantas en los cuales la proteína sea estable (Becerra y Paredes, 2000).

Los marcadores con isoenzimas se caracterizan por presentar expresión alélica de tipo codominante, lo que permite hacer comparaciones entre especies, poblaciones de una misma especie y detectar la presencia de híbridos e introgresión de genes (Paredes y Gepts, 1995).

La caracterización de las colectas se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos y/o agronómicos. No obstante, el uso de marcadores morfológicos tiene muchas limitantes, pues su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos. Con frecuencia estos marcadores pueden ser evaluados a nivel de toda la planta y cuando ésta llega a su estado adulto. Para los investigadores tomar los datos de las plantas hasta estado adulto significa una espera que se refleja en retraso. Por otro lado, actualmente se han desarrollado métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares que superan, en la gran mayoría de los casos las limitantes de los métodos tradicionales (Azofeita – Delgado, 2006).

Las limitaciones de los marcadores morfológicos y bioquímicos han sido superadas con la nueva generación de marcadores moleculares basados en las variaciones del ADN, ya que presentan la característica de no ser afectados por el ambiente y dependen directamente de las propiedades del ADN, las cuales no cambian aunque las plantas estén sujetas a condiciones ambientales cambiantes (Mendoza – Herrera y Simpson, 1996).

Los avances actuales en la Biología Molecular permiten visualizar diferencias tangibles entre las secuencias homólogas del ADN de los organismos. Estas diferencias resultan de cambios o arreglos entre las bases que forman este tipo de moléculas tales como: translocaciones, inversiones, inserciones o deleciones en regiones homólogas. Por lo tanto estos marcadores detectan variaciones directas a nivel del ADN y tienen ventajas como el hecho de ser dominantes o codominantes, desarrollándose de manera estable, de carecer de efectos pleiotrópicos y sobre todo de no estar sujetos al ambiente (Valadez y Kahl, 2000).

Cuadro 5. Principales marcadores bioquímicos y moleculares utilizados para la identificación de especies vegetales en la última década.

Marcadores bioquímicos	Aloenzimas (Tansley and Orton, 1983; Kephart, 1990; May, 1992).
Marcadores moleculares basados en ADN citoplásmico (cloroplastos (cpDNA), mitocondrial (mtADN) o ADN nuclear.	Técnica basada en la no-PCR² Longitudes Polimórficas de Fragmentos de Restricción (RFLP). (RFLP, Botstein <i>et al.</i>, 1980; Neale and Williams, 1991) Minisatélites o Repeticiones en Tandem de Número Variable (VNTR) (VNTR Jeffreys <i>et al.</i>, 1985 a,b)
Marcadores moleculares basados en ADN citoplásmico (Cloroplastos,(cpDNA), mitocondrial (mtADN) o ADN nuclear.	Basado en la técnica de PCR ADN secuenciado Multicopias de ADN, regiones de espacios internos de genes transcritos en el ribosoma nuclear (ITS) (Takaiwa <i>et al.</i>, 1985; Dillon <i>et al.</i>, 2001). Copia simple de ADN, incluyendo intrones y exones (Sanger <i>et al.</i>,1977; Clegg, 1993a). Sitios de Secuencias Etiquetadas (STS) Microsatélites, Secuencias Repetidas Simples, (SSR), Repeticiones Cortas en Tandem (STR), Microsatélite de Secuencia Etiquetada (STMS) o Polimorfismo de Longitud de Secuencia Simple (SSLP). (Hearne <i>et al.</i>, 1992; Morgante and Olivieri, 1993; Queller <i>et al.</i>, 1993; Jarne and Lagoda, 1996). Polimorfismo de Longitud de Secuencia Amplificada (ASLP) (Maughan <i>et al.</i>, 1995). Caracterizado de Secuencias de Regiones Amplificadas (SCAR) (Paran and Michelmore, 1993). Secuencia Polimórficas Adheridas y Amplificadas (CAPS) (Akopyanz <i>et al.</i>, 1992; Konieczny and Ausubel 1993). Polimorfismo de Conformación de Cadena Simple (SSCP) (Hayashi, 1992). DGGE (Riedel <i>et al.</i>, 1990).TGGE (Riesner <i>et al.</i>, 1989). Análisis heteroduplex (HDA) (Perez <i>et al.</i>, 1999). DHPLC (Hauser <i>et al.</i>, 1998). Polimorfismo Amplificado de ADN por Primer Arbitrario (MAAP) (Caetano Anolles, 1996). ADN polimórfico amplificado al azar, RAPD (Williams <i>et al.</i>, 1990). Minisatelites Amplificación de ADN (identificación de individuos) DAF, (Caetano – Anolles <i>et al.</i> 1991). AP-PCR (Welsh and McClelland, 1990).

Secuencias Repetidas Intersimples (ISSR), (Zietkiewicz *et al.*, 1994).
Reacción Amplificada de Primer Simple (SPAR) (Staub *et al.*, 1996).
ADN de Minisatélite de Amplificación Directa (DAMD) (Heath *et al.*, 1993).
Polimorfismo en la Longitud de Fragmento Amplificado (AFLP) (Vos *et al.*, 1995).
Loci Polimórfico de Microsatélite Amplificado Selectivamente (SAMPL), (Witsenboer *et al.*, 1997).

Fuente: Spooner *et al.* (2005).

Para obtener marcadores del ADN, se usan diferentes métodos que se pueden agrupar de manera convencional en tres categorías. La primera se basa en la técnica conocida como hibridación (Southern). Esta técnica tiene el propósito de explorar las variaciones en la longitud de los fragmentos de ADN ocasionados por la restricción del genoma con alguna endonucleasa particular. En esta categoría se incluye a los RFLP y a los VNTR (Valadez y Kahl, 2000).

La segunda categoría agrupa a las metodologías basadas en la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (Polymerase Chain Reaction). Esta tecnología utiliza secuencias de oligonucleótidos que inician la síntesis *in vitro* de fragmentos de ADN de longitudes variables. Estas secuencias pueden ser aleatorias, semialeatorias o específicas. Para esta tecnología se pueden citar como ejemplo las tecnologías: RAPD, AP-PCR, DAF y AFLP (Valadez y Kahl, 2000).

La tercera categoría involucra metodologías que combinan la PCR o sus productos de ADN más la hibridación tipo Southern. Por ejemplo la técnica de RAHM o llamada también RAMPO, que requiere de la síntesis previa de ADN con cualquiera de las metodologías de la PCR y la posterior hibridación con alguna sonda que detecte microsatélites, optimizando la tipificación del ensayo pues con el resultado de la PCR se detecta un patrón de fragmentos llamados de primera generación, pero al hibridar las huellas con la sonda radioactiva detecta microsatélites y se revela otro patrón llamado de segunda generación (Valadez y Kahl, 2000).

2.11.1. Descripción de la metodología ISSR para determinar marcadores moleculares

El genoma del tomate es considerado como uno de los más investigados entre otras especies de plantas, con gran número de marcadores moleculares descritos (Kocheiva *et al.*, 2002a; 2002b; Tikunov *et al.*, 2003), sigue siendo

ineludible crear nuevos marcadores con alto grado de polimorfismo. (Tikunov *et al.*, 2003).

Los ISSRs son un tipo de marcador genético que nos permite evaluar los niveles de variación entre las regiones microsatélite que se encuentran dispersas en varios genomas, particularmente el nuclear aun que también se puede encontrar en otros organelos. Estas regiones consisten en repeticiones en tandem de pares de bases simples como (CT) n ó (CA) n , ubicadas entre secuencias no repetitivas del genoma nuclear eucarionte. Los pares de bases repetidos, llamados también SSRs (simple sequence repeats) pueden ser penta-, tetra-, tri- y dinucleótidos. La longitud de las secuencias de los microsatélites tiende a ser altamente variable entre individuos debido a las altas tasas de mutación que experimentan, ya que cuando el DNA se replica durante la meiosis, la DNA polimerasa puede “tartamudear” hacia adelante o hacia atrás en las unidades repetidas, eliminando o agregando unidades a la cadena. Las cadenas resultantes pueden entonces presentar menos o más unidades de repetición (o pares de bases) que en las cadenas parentales (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Wolfe, 2000). Estos marcadores son semiarbitrarios amplificados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de la presencia de un oligonucleótido o iniciador complementario a un microsatélite, diseñado para unirse a los pares de bases repetidos de di y trinucleótidos (evitando los mononucleótidos presentes en el cloroplasto). Los iniciadores de ISSR consisten en pares de bases repetidos de di- o trinucleótidos complementarios a la secuencia del microsatélite. A veces es posible añadir a esta secuencia un par de nucleótidos extra arbitrarios en el extremo 3' o en el 5', que jugarán el papel de “anclas” asegurando así que la amplificación inicie siempre en el extremo 5' o en el 3' del microsatélite, respectivamente (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Borner y Branchard, 2001; Pradeep, 2002).

Cuando dos secuencias repetidas se presentan dentro de una distancia amplificable y con una orientación invertida, el ‘primer’ complementario a ellas

puede inducir la amplificación del segmento de ADN intermedio. La molécula generada, con un tamaño particular (peso molecular), se considera un “locus”, que representa el segmento de ADN entre los microsatélites. Se ha verificado que los ISSR frecuentemente amplifican de 25 a 50 bandas en una sola reacción. Este patrón característico de productos de PCR se considera la “huella digital genética” de cada individuos analizado. El polimorfismo entre individuos de la misma población puede detectarse, ya que el análisis es sensible a la presencia/ausencia del elemento genómico reconocido por el iniciador y a la longitud de la secuencia intermedia amplificada (Zietkiewicz *et al.*, 1994).

Las bandas de ISSR se consideran marcadores dominantes. La presencia de la banda representa el genotipo dominante (homócigo o heterócigo), mientras que su ausencia representa el genotipo homócigo recesivo. Se asume que siempre existen dos alelos por locus. La ausencia de una banda puede deberse a varios factores: 1) la no existencia de un sitio de unión completo al ‘primer’ debido a una mutación; 2) rearrreglos estructurales en el cromosoma durante la meiosis; 3) inserciones o deleciones suficientemente grandes como para aumentar o disminuir el tamaño de la banda, de manera que se identifica como un locus diferente.

Finalmente, los marcadores ISSR no requieren tener un conocimiento previo sobre las secuencias a amplificar además se muestran un alto grado de polimorfismo en el material evaluado, siendo muy útiles en estudios de diversidad genética, filogenia, genómica y evolución biología (Reddy *et al.*, 2002).

2.11.2. Técnicas para generar marcadores moleculares

La utilidad de los marcadores genéticos depende de la técnica que se utiliza para detectarlos y para eso es necesario disponer de progenitores que presenten genotipos con grandes diferencias para la característica de interés. Adicionalmente a lo anterior, para la detección de marcadores con características cualitativas, se utilizan poblaciones segregantes y si las

características son cuantitativas es recomendable utilizar líneas endogámicas (Powell, 1992).

2.11.3. Interpretación de las huellas de ADN para análisis filogenéticos

Un patrón de huellas obtenido a partir de una muestra de ADN es raramente informativo de manera individual; sin embargo, cuando se utilizan diferentes muestras pueden ser comparados unos con otros dentro de una línea del gel, asignándoles una posición particular, esto se realiza utilizando un marcador de peso molecular conocido. A partir de éste, diferentes líneas son analizadas de manera simultánea basándose en la propiedad que tienen las bandas en cuanto a su tamaño y peso molecular, debido a que ésta propiedad permite analizar la migración de las bandas en las posiciones iguales si éstas presentan igual tamaño y peso molecular. La precisión y exactitud depende del personal que la realice, de los parámetros metodológicos, la calidad del ADN, las condiciones electroforéticas, la calidad de los reactivos utilizados así como de los equipos (Valadéz y Kahl, 1997).

Otros factores importantes en la interpretación de las huellas de ADN consiste en evitar los errores al momento de analizar las bandas y éstos generalmente son: eliminar las bandas que sean difíciles de interpretar por causas de falta de definición con respecto a los comparadores, evitar que los criterios de inclusión en un grupo de bandas sean erróneos, por ejemplo el espesor de la banda, diferente posición de migración en el gel o la falta de definición (Valadéz y Kahl, 1997).

2.11.4. Antecedentes del uso de marcadores moleculares y morfológicos en el cultivo de tomate

Para la utilización del potencial genético se requiere un conocimiento detallado de las características presentes en los materiales de las accesiones (Medina y Lobo, 2001). Pratta *et al.* (2003) proponen que algunos caracteres morfo-vegetativos como la longitud de entrenudos, perímetro del tallo en las partes basal media y apical, ausencia y presencia de tricomas, y número de flores por

racimos, tamaño de hojas entre otros, son importantes para la determinación de la aptitud agronómica de una variedad, además, podrían estar asociados con el rendimiento final de los genotipos.

Carrillo y Chávez (2010) documentan una variación morfológica de poblaciones nativas de tomate, este estudio fue realizado en condiciones de invernadero con 49 poblaciones nativas de Oaxaca. Encontraron diferencias significativas para 19 características fenológicas y morfológicas de los órganos aéreos como las flores, frutos y tallos de la planta. Por otro lado Álvarez *et al.* (2009) evaluaron en campo, poblaciones de jitomates silvestres (*Solanaceae*) en tres regiones de Michoacán sin observar diferencias para color del fruto (rojo), color de la flor (amarillo), margen de los foliolos (aserrados) y hábito de crecimiento (rastrero-trepador).

Agudelo *et al.* (2011) reportaron la caracterización morfológica de 27 materiales de tomate tipo cereza. Esta se realizó con base en descriptores para el tomate de Biodiversity International (antes IPGRI). En el cual se evaluaron 15 variables morfológicas. Cuatro de las nueve variables cualitativas y cuatro de las seis cuantitativas evaluadas, mostraron diferencias significativas. En color exterior del fruto maduro y color del hipocótilo, se presentó una intensidad intermedia entre el 65.38 y 60.85 % de las introducciones, respectivamente. La introducción 157, se destacó por presentar los mayores valores en longitud y ancho del fruto con 5.0 cm y 7.0 cm, respectivamente; ésta se grupo con la introducción 1622, además exhibieron la mayor longitud y ancho de la hoja primaria con 4.19 cm - 4.02 cm y 0.69 cm–0.72 cm, respectivamente. El estudio mostró gran diversidad fenotípica en las introducciones caracterizadas, por lo que estas que puede ser aprovechable para el mejoramiento genético de la especie cultivada.

Prohens *et al.* (2003), encontraron que la distancia de entrenudos de los tomates silvestres caracterizados en su estudio, presentaron un rango entre

2.96 y 6.38 cm. Así mismo, *Pratta et al.* (2003), indicaron que la distancia de entrenudos está relacionada con la presencia del gen *sp*, que determina el hábito de crecimiento determinado en la planta. Por otro lado, Vallejo (1994) indicó que el híbrido con menor distancia de entrenudos fue el obtenido por el cruzamiento entre progenitores con hábito de crecimiento determinado (cv. Rin y cv. Caimanta, homocigotos recesivos para el gen *sp*) mientras que los híbridos con mayores valores tenían al menos uno de los progenitores con hábito de crecimiento indeterminado.

Rodríguez *et al.* (2005), documentaron que las plantas que poseen mayor longitud de entrenudos, menor perímetro del tallo en la parte media, mayor número de flores por inflorescencia, menor número de inflorescencias y menor precocidad produjeron frutos con mayor acidez y con una vida poscosecha más prolongada. Algunos caracteres morfo-vegetativos como longitud de entrenudos, perímetro del tallo en las partes basal, media y apical y número de flores por racimos, área foliar y altura de planta entre otros, son importantes para la determinación de la aptitud agronómica de una variedad

Utria *et al.* (2005) señalan que la acumulación de materia seca puede considerarse como una característica de importancia agronómica, ya que un incremento de la biomasa con frecuencia se asocia con un aumento de la actividad fotosintética y un incremento en el rendimiento, además las diferencias de biomasa entre genotipos se manifiestan aún en estado temprano de plántula.

Los marcadores ISSR están siendo utilizados por varios autores en la caracterización molecular de muchas especies de plantas, tales como: tomate (Kamel *et al.*, 2010). Cuando se comparan con los marcadores SSR (Secuencias repetidas simples) (Goulao y Oliveira, 2001), AFLP (polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados) (Saini *et al.*, 2004), RFLP (Polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción) (Kesari *et al.*, 2010) y RAPD (amplificación aleatoria del ADN polimórfico) (Marotti *et al.*, 2007)

los marcadores ISSR fueron los más eficientes para obtener un gran número de bandas polimórficas.

Aguilera *et al.* (2011) documentaron la diferenciación de 96 accesiones de tomate caracterizadas por marcadores ISSR, los diez iniciadores utilizados, generaron 144 bandas de ADN, de las cuales solo 53 mostraron polimorfismo, con un promedio de 14.4 bandas por iniciador. De los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que los marcadores ISSR tienen una alta eficiencia para diferenciar el germoplasma de especies silvestres.

Marín *et al.* (2006) reportaron la variación genética en 55 colecciones de tomate nativo (*Solanum lycopersicum* L.) de nueve estados de México. Las colecciones se caracterizaron morfológicamente en condiciones de invernadero basadas en 62 descriptores utilizados por el Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). La caracterización molecular se realizó utilizando marcadores ISSR con 16 iniciadores, que generaron 118 productos amplificados, de los cuales 81 permitieron diferenciar las colecciones (68.7 % de polimorfismo). El análisis multivariado detectó tres grupos basados en descriptores morfológicos de hojas, flores, tallos y frutos, mientras que la caracterización molecular generó siete grupos, coincidiendo solo en 26.5 %. Los orígenes de las colecciones no tuvieron asociación con los 'clusters'. Se detectó la presencia de una variabilidad genética significativa en los tomates nativos, por lo que se concluye que dentro de los grupos generados es posible identificar materiales con características de interés para la reproducción.

Sanghani and Mandavia (2013) realizaron un estudio comparativo sobre la diversidad genética de diez genotipos de tomate (*Lycopersicon lycopersicum* Mill.) a través de marcadores RAPD, ISSR y SSR. Los datos de RAPD mostraron que el iniciador OPK-03 fue el mejor iniciador que resultó en una buena amplificación con un valor PIC máximo (0.842). El dendrograma construido utilizando los datos de RAPD distinguió claramente todos los

genotipos. Se mostró que los genotipos NDT-9 y HADT-145 encontrados en un grupo compartían la máxima similitud (82.1 %); sin embargo, el genotipo JTL-04-108 se agrupó con otros nueve genotipos y compartió similitud mínima (50.7 %). Los datos de ISSR mostraron que el iniciador K-13 fue el mejor y este presentó una buena amplificación con un valor PIC máximo (0.858). El coeficiente de similitud de Jaccard osciló entre 0.507 y 0.821. Los resultados de ISSR indicaron que se encontró una similitud máxima de 82.1 % entre NDT-9 y HADT-145, mientras que se obtuvo una similitud mínima de 50.7 % entre GT-1 y JTL-04-108. A partir de los datos de SSR, se encontró que LETTC 002 fue el mejor iniciador mostrando una buena amplificación con un valor PIC máximo (0.749). El coeficiente de similitud de Jaccard osciló entre 0.519 y 0.846 indicando que los genotipos HADT-145 y NDT-9 presentaron una variabilidad máxima en comparación con el resto de los genotipos. El análisis combinado de RAPD, ISSR y SSR reveló que los genotipos HADT-145 y NDT-9 mostraron una similitud máxima del 73.7 % respecto a la población total. Además se encontró que la similitud más baja fue de 58.1 % entre los genotipos GT-1 y JTL-04-108. Mansour *et al.* (2010) investigaron tres diferentes marcadores moleculares, RAPD (ADN polimórfico amplificado al azar), ISSR (secuencias repetidas inter-simple) y IRAP (inter-retrotransposón de polimorfismo amplificado) para detectar la variación genómica dentro de 10 cultivares de tomate. Los resultados individuales y en conjunto para los RAPD, ISSR e IRAP mostraron que los dendrogramas construidos son diferentes, y que la similitud y la agrupación son altamente dependientes del tipo de marcador utilizado.

Sanghani (2011), documenta una caracterización de genotipos de tomate (*Lycopersicon lycopersicum* Mill.) usando marcadores morfológicos, bioquímicos y moleculares. El material experimental comprendió diez genotipos de tomate. Para la caracterización morfológica se utilizaron altura de la planta, número de ramas, extensión de la planta, longitud de la fruta, circunferencia de la fruta, semillas por fruta, forma de la fruta y color de la fruta. Para la caracterización bioquímica se utilizaron tres isoenzimas, estas fueron: Esterasa,

Peroxidasa y Catalasa y el perfil de proteínas de las plántulas. Se utilizaron 11 iniciadores RAPD, 13 ISSR y 23 iniciadores SSR para la caracterización molecular. La caracterización morfológica indicó una variación significativa en seis caracteres cuantitativos entre los diez genotipos de tomate; el genotipo GT-1 mostró la altura máxima de la planta (80 cm) y extensión de la planta (45.6 cm), mientras que el genotipo JTL-04-49 mostró la longitud máxima de la fruta (8.85 cm) y la circunferencia de la fruta (19.6 cm), mientras que los genotipos JTL-08-33 y JTL-08-14 mostraron el número máximo de ramas y semillas por fruto, respectivamente. No hubo variación para los caracteres cualitativos forma de la fruta y el color de la fruta entre los diez genotipos de tomate. En cuanto a la diversidad genética presente a nivel molecular, el dendrograma de RAPD basado en el análisis UPGMA agrupó a los 10 genotipos de tomate en dos grupos principales A y B, con un coeficiente de similitud de Jaccard que osciló entre 0.507 y 0.821. El análisis de RAPD indicó que los genotipos NDT-9 y HADT-145 fueron más similares, mientras que se encontró menos similitud entre GT-1 y JTL-04-108. Por otro lado, el dendrograma ISSR basado en el análisis UPGMA formó dos grupos principales, grupos A y B, con un coeficiente de similitud de Jaccard que osciló entre 0.507 y 0.821. El análisis ISSR indicó que los genotipos NDT-9 y HADT-145 fueron más similares, mientras que se encontró menos similitud entre GT-1 y JTL-04-108. Por otro lado, el dendrograma de SSR basado en el análisis UPGMA mostró dos grupos principales, grupos A y B. El coeficiente de similitud de Jaccard varió de 0.519 a 0.846. El valor de índice de similitud más alto de 0.846 se encontró entre JTL-08-7 y JTL-04-108, mientras que el valor de índice de similitud más bajo de 0.519 se encontró entre NDT-9 y JTL-04-57 y NDT-9 y ATL-07 -1. Además, el análisis combinado de RAPD, ISSR y SSR reveló que los genotipos NDT-9 y HADT-145 fueron similares en un 73 %. También, se encontró un resultado similar de la mayor similitud entre estos genotipos cuando se usó marcadores RAPD e ISSR, donde el índice de similitud fue de 82 %. Mientras que entre los genotipos GT-1 y JTL-04-108 se observó la menor similitud (58 %). Un valor de similitud de 50 % se encontró entre los genotipos GT-1 y JTL-04-108. Cuando

se usó los marcadores RAPD e ISSR, GT-1 mostró máxima variabilidad entre todos los genotipos.

2.12. LITERATURA CITADA

- Agudelo, A. G.; Ceballos, N. y Orozco, F. J. 2011. Caracterización morfológica del tomate tipo cereza (*Solanum lycopersicum* Linnaeus). *Agronomía*, 19(2), 44-53.
- Aguilera, J.G., Pessoní, L.A., Rodrigues, G.B., Elsayed, A.Y., Silva, D.J.H. and Barros, E.G. 2011. Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Revista Brasileira de Ciencias Agrarias*, 6(2), 243-252.
- Álvarez H. J. C., Cortez M. y García R. 2009. Exploración y caracterización de poblaciones silvestres de jitomate (*Solanaceae*) en tres regiones de Michoacán, México. *Polibotánica*, 28, 139-159.
- Bornet B. y Branchard M. 2001. Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19, 209-215.
- Carrillo R. J. C. y Chávez J.L. 2010. Caracterización agromorfológica de muestras de tomate de Oaxaca. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33, 1-6.
- Castellanos, J. Z. 2009. Manual de producción de tomate en invernadero. Celaya, Guanajuato, México: Intagri, S. C. pp:118-156.
- Causse, M., Buret, M., Robini, K., y Verschave, P. 2003. Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. *Journal of Food Science*, 68(7), 2342-2350.
- Chamarro, J.1994. *Anatomía y fisiología de la planta*. Nuez, F. (ed.). *El cultivo del tomate*. Barcelona, Ed. MundiPrensa. pp:43-91.
- Chávez S. J. L., J. C. Carrillo, A. M. Vera, E. Rodríguez y Lobato R. 2011. Utilización Actual y Potencial del Jitomate Silvestre Mexicano. Subsistema Nacional de Recursos Fitogénéticos para la Alimentación y la Agricultura (SINAREFI), Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo

- Rural, Pesca y Alimentación, CIIDIR-Unidad Oaxaca del Instituto Politécnico Nacional e Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, México. 72p.
- Coombs J., Hall D.O. 1982. Whole Plant Photosynthesis and Productivity. In: Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis. Ed. Pergamon Press, Oxford. 171p.
- Dengler N.G. 1984. Comparison of leaf development in normal (+/+), entire (e/e) and lanceolated (La/+) plants of tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill. «Ailsa craig». *Botanical Gazette*, 145, 66-77.
- Escalona, C. V.; P. V. Alvarado; H. M. Monardes, C. Z. Urbina y Martin A.B. 2009. Manual de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Facultad de CS. Agronómicas Universidad de Chile. InnovaChile. CORFO. pp:13-14 y 30.
- Espinoza, C.A. Y. 2009. Evaluación y Selección de genotipos de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en base a variables fisiotécnicas (agroclimáticas y fenológicas, fisiológicas y de rendimiento). Tesis de licenciatura, UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coah. p:5.
- Esquinas, A. J. y F. V. Nuez. 2001. Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate. En: El Cultivo del Tomate. F. Nuez. Mundi-Prensa. España. pp:13-42.
- Estadística de agricultura de la FAO (FAOSTAT). 2008. WWW.fao.org/faostat
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2016. FAOSTAT Producción agrícola [online]. Disponible en: www.fao.org/faostat/es/
- Florido, M.; Álvarez, M.; Lara, R., Plana, D.; Varela M.; Shagarodsky T. y Moya, C. 2002. Caracterización morfo-agronómica y bioquímica de 20 accesiones de tomate (*Lycopersicon spp*). *Revista Cultivos Tropicales*, 23(4), 61-69.
- Florido, M.; Álvarez, M.; Lara, R.; Plana, D. Varela, M., Shagarodsky T. & Moya, C. 2008. Análisis de la variabilidad morfo-agronómica en la colección de

- tomate (*Solanum* L. sección *Lycopersicon* subsección *Lycopersicon*) conservada ex situ en Cuba. *Revista Cultivos Tropicales*, 29(2), 43-48.
- Fonseca, A. E. 2006. Producción de tomate en invernadero. In: Cuarto Simposio Internacional de Producción de Cultivos en Invernadero. E. Olivares S. (ed). UANL: Facultad de Agronomía. Monterrey. N. L. México. pp:1-8.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4ª. ed. UNAM. México. 252p.
- Goulao, L.; Oliveira, C. 2001. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus × domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica*, 122(1), 81-89.
- Guarino, L., A. J.; Hijmans, J. R.; Maxted, N. 2008. 36 Geographic Information Systems (GIS) and the Conservation and Use of Plant Genetic Resources. International conference on science and technology for managing plant genetic diversity in the 21st century Theme 10: GIS applications for genetic resources management Kuala Lumpur, Malaysia
- Hintum, T.J.L. Van C. 1995. Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants. In: Core collections of plant genetic resources. Hodking , T., A.H.D. Brown, T.J.L. Van Hintum and E.A.V. Morales (eds.). John Wiley and Sons, New York. pp:23-34.
- Humphrey, L.M. 1937. A cytological and morphological analysis of tomato species. *Cytologia*, 8, 306-318.
- Jaramillo,J; V.P. Rodríguez, M. Guzmán y Zapata M. 2006. El cultivo de tomate bajo invernadero. Corpoica, Centro de Investigación La Selva, Rionegro (Antioquia, Colombia).
- Jones, R.A. and Scott, S.I. 1983. Improvemento (tomato flavor by genetically increasing sugar and acid contents. *Euphytica*, 32, 845-855.
- Kamel, M.A.; Soliman, S.S.; Mandour, A.E.; Ahmed, M.S.S. 2010. Genetic evaluation and molecular markers for heat tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of American Science*, 6(12), 364-374.

- Kesari V.; Sathyanarayana, V.M.; Parida, A.; Rangan, L. 2010. Molecular marker-based characterization in candidate plus trees of *Pongamia pinnata*, a potential biodiesel legume. *AoB Plants*, 17, 1-12.
- Kochieva, E.Z.; Ryzhova, N.N.; Khrapalova, I.A.; Pukhalskiä-, V.A. 2002. Using RAPD for estimating genetic polymorphism in and phylogenetic relationships among species of the genus *Lycopersicon* (Tourn.) Mill. *Genetika*, 38(9), 1298-1306.
- Kochieva, E.Z.; Ryzhovaa, N.N.; Khrapalova, I.A.; Pukhalskyi, 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.
- Kumar, R., Mishra, N. K., Singh, J., Rai, G. K., Verma, A. & Rai, M. 2006. Studies on yield and quality traits in tomato (*Solanum lycopersicon* (Mill.) Wettstd.). *Vegetable Science*, 33(2), 126-132.
- Maluf, W.R. 1982. Melhoramento genético do tomate, *Lycopersicon esculentum* Mill. Embrapa/CN PHorcalicas Brasília. (mimeografiado).
- Mansour, A., Silva, J.T., Edris, S. and Younis, R.A.A., 2010, Comparative assessment of genetic diversity in tomato cultivating using IRAP, ISSR and RAPD molecular markers. *Genes, Genomes and Genomics*, 4(1), 41-47.
- Marotti, I.; Bonetti, A.; Minelli, M.; Catizone, P.; Dinelli, G. 2007. Characterization of some Italian common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces by RAPD, semi-random and ISSR molecular markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(1), 175-188.
- Medina, C. & Lobo, M. 2001. Variabilidad morfológica en el tomate pajarito (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) precursor del tomate cultivado. *Revista Corpoica*, 3(2), 39-50.
- Melo, P.C.T. 1989. Melhoramento genético do tomateiro. Campinas. Asgrow do Brasil Sementes.

- Miller, J. y Tanksley, S. 1990. RFLP analysis phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 80, 437-448.
- Miller, P. 1754. The gardener's dictionary, Abridged. 4th ed. London: John and James Rivington. 1582 p.
- Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate. Madrid. Ed. Mundi-Prensa.
- Nuez, F. 1999. El cultivo del tomate. 2da ed. Ediciones Mundi-Prensa Libros., Madrid. España. pp:43-87.
- Organización de las Naciones Unidas para Alimentación y la Agricultura (FAO). 2012. Consulta: Febrero de 2017. <http://www.fao.org/statistics/databases/es/>
- Peralta I. E.; Knapp S. & Spooner D. M. 2006. Nomenclature for wild and cultivated tomatoes. *Tomato Genetics Cooperative Report*, 56, 6–12.
- Pérez, M. B., Albarracín, M., Moratinos, H. & Zapata, F. 2012. Rendimiento y calidad de fruto en cuatro cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo condiciones protegidas. *Revista Facultad Agronomía*, 29, 395-412.
- Pires, R. C. M., Furlani, P. R., Ribeiro, R. V., Junior, D. B., Sakai, E., Lourenção, A. L. & Neto, A. T. 2011. Irrigation frequency and substrate volume effects in the growth and yield of tomato plants under greenhouse conditions. *Scientia Agricola*, 68(4), 400-405.
- Pradeep R., Sarla N. y Siddiq E.A., 2002. Inter simple sequence repeats (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128(1), 9-17.
- Pratta, G., Cánepa, L.;Zorzoli, R. y Picardi, L. 2003. Efecto del germoplasma silvestre sobre caracteres de interés agronómico en híbridos intra e interespecíficos del género *Lycopersicon*. *Revista de Investigación de la Facultad de Ciencias Agrarias*, (3), 13-21.
- Prohens, J.; Blanca J. & Nuez F. 2003. Caracterización de tomates silvestres de las islas Galápagos. En: Actas de horticultura Nº 39. X congreso nacional

- de ciencias hortícolas. Universidad Politécnica de Valencia. Pontevedra, Galicia, España. pp: 114-116.
- Raffo, A; Leonardi, C; Flogiano, V; Ambrosino, P; Salucci, M; Gennaro, L; Bugianesi, R; GiuffridA, F; Quaglia, G. 2002. Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 6550–6556.
- Ramanatha R. V. and Hodgkin T. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell and Tissue Organ Culture*, 68, 1-19.
- Reddy, M.; Sarla, N.; Siddiq, E. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128(1), 9-17.
- Rick, C. M. 1986. Germoplasm resources in the wild tomato species. *Acta Horticulturae* 190: 39–47.
- Rodríguez G. E., D. Vargas, J. J. Sánchez, R. Lépez, A. Rodríguez, J. A. Ruíz, P. Puente y Miranda R. 2009. Etnobotánica de *Solanum lycopersicum* var. ceraciforme en el occidente de México. *Naturaleza y Desarrollo*, 7, 45-57.
- Rodríguez, G.; Pratta G.; Zorzoli R. & Picardi, L. A. 2005. Caracterización de la generación segregante de un híbrido de tomate con genes nory silvestres. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *Brasília* 40(1), 41-46. Consulta Noviembre de 2018. <http://www.scielo.br/pdf/pab/v40n1/23240.pdf>
- Saini, N.; Jain, N.; Jain, S.; Jain, R. 2004. Assessment of genetic diversity within and among Basmati and non-Basmati rice varieties using AFLP, ISSR and SSR markers. *Euphytica*, 140, 133-146.
- Sanghani A. O. 2011. Characterization of Tomato (*Lycopersicon lycopersicum* Mill.) Genotypes through Morphological, Biochemical and Molecular Markers. Master's Thesis (biotechnology). Junagadh Agricultural University, Junagadh.

- Sanghani, A. O., Mandavia K. M. 2013. Characterization of tomato (*Lycopersicon lycopersicum* mill.) genotypes through RAPD, ISSR and SSR markers. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 26(2), 141-147.
- Shirahige, F. H., Melo, P. C. T., Jacomino, A. P., Melo, A. M. T., Purqueiro, L. F. V. & Roquejani, M. S. 2009. Yield and qualitative characterization of fresh market tomato hybrids of Italian and Santa Cruz types. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 821, 81-88.
- Statistical Analysis System, SAS. 2004. Versión 9. Copyright © 2002 by SAS Intitute Inc., Cary, NC, USA.
- Tabaré, A. y Barretta, A. 2001. Conservación de recursos genéticos *ex situ*. En: PROCISUR, IICA (Eds) Estrategia en Recursos Fitogenéticos para los Países del Cono Sur IICA. Revista INIA Uruguay. Montevideo. pp:91-94.
- Tigchelaar, E. C. 1986. Tomato Breeding. Basset, M.J. (Ed.). En: Breeding Vegetable Crops. M. J. Bassett, (ed.) AVI Publishing Company. Inc., Westport. pp. 135-171
- Tikunov, Y.M.; Khrustaleva, L.I.; Karlov, G. 2003. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. *Euphytica*, 131(1), 71-81.
- Utria E. R. I., A. Cabrera, D. Morales y Lores A. 2005. Crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico. *Cultivos Tropicales*, 26, 31-38.
- Vallejo, EA.1994. Consideraciones generales sobre el mejoramiento genético del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Acta Agronómica*, 44(1/4), 11-24.
- Vallejo, F.A. 1999. Mejoramiento genético y producción del tomate en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Ed. Feriva. Palmira. 75 p.
- Wolfe A., 2000. ISSR Resource Website. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~awolfe/ISSR/ISSR.html>

Zietkiewicz E., Rafalski A. y Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20, 176-183.

3. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE 145 ACCESIONES DE JITOMATE SILVESTRE (*Solanum* sp.) DEL SUR DE MEXICO

3.1. RESUMEN Y ABSTRACT

3.1.1. RESUMEN

El grupo de plantas que forman parte de *Solanum* sect. *Lycopersicon*, es de gran importancia en México y el mundo por la extensión de su cultivo, demanda y forma de consumo, en este grupo se encuentra el jitomate domesticado y sus parientes silvestres. El jitomate cultivado se ha generado a partir de una base genética estrecha y es afectado por numerosos factores bióticos y abióticos que limitan su producción. Los materiales silvestres pueden constituir una fuente de genes de resistencia útiles que pueden ser transferidos a la especie cultivada en programas de mejoramiento genético. Respecto a lo anterior, se ha puntualizado la necesidad de hacer investigación en lo referente a su caracterización morfológica y evaluación agronómica. Por lo anterior, el propósito del presente estudio fue caracterizar agro-morfológicamente 145 accesiones provenientes de los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Puebla. La metodología se basó en los descriptores más discriminantes (veintiuno), recomendados por Biodiversity International. Las variables cuantitativas área foliar, color de hoja, número de frutos, peso del fruto, color de fruto b, color de fruto (a) y (L) determinaron la formación de cuatro grupos diferentes de jitomates silvestres. Las variables cualitativas más importantes que determinaron la diferenciación de los genotipos fueron el hábito de crecimiento, el color de fruto y la forma de fruto, creando dos grupos diferentes. En la mayoría de los jitomates silvestres evaluados se observó variabilidad morfológica presente y características interesantes de todo tipo que pueden ser aprovechadas en programas de mejoramiento genético.

3.1.1.1. Palabras clave: variabilidad genética, descriptor, México.

3.1.2. ABSTRACT

The group of plants that are part of *Solanum* sect. *Lycopersicon*, is of great importance in Mexico and the world for the extension of its cultivation, demand and form of consumption, in this group is the domesticated tomato and its wild relatives. The cultivated tomato has been generated from a narrow genetic base and is affected by numerous biotic and abiotic factors that limit its production. Wild materials can be a source of useful resistance genes that can be transferred to the species grown in breeding programs. Regarding the above, has pointed out the need to do research in relation to its morphological characterization and agronomic evaluation. Therefore, the purpose of this study

was to characterize 145 morphologically accessions from the states of Guerrero, Oaxaca, Michoacán and Puebla. The methodology was based on the most discriminating descriptors (twenty-one), recommended by Biodiversity International. The quantitative variables leaf area, leaf color, number of fruits, weight of the fruit, color of fruit b, color of fruit (a) and (L) determined the formation of four different groups of wild tomatoes. The most important qualitative variables that determined the differentiation of the genotypes were the growth habit, the fruit color and the fruit shape, creating two different groups. In the majority of the wild tomatoes evaluated, morphological variability was present and interesting characteristics of all types that can be exploited in breeding programs.

3.1.2.1. Keywords: genetic variability, descriptors, Mexico.

3.2. INTRODUCCIÓN

El jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza más cultivada y de mayor valor económico en el mundo, por su amplia adaptabilidad y rendimiento, genera importantes ingresos económicos a los agricultores que lo cultivan. Esta hortaliza constituye el 30 % de la producción hortícola, con alrededor de 4, 782, 754 hectáreas sembradas y 177.042 millones de toneladas de frutos cosechados (FAO, 2016). En México, el tomate es la segunda hortaliza más importante que se cultiva a gran escala en el norte del país tanto a cielo abierto como en condiciones protegidas (Sandoval, 2005). Sin embargo, a pesar de lo anterior, actualmente existen numerosos factores bióticos y abióticos que limitan su producción (Esquinas y Nuez, 2001). Una manera de mitigar este problema consiste en la obtención de variedades resistentes a dichos factores mediante mejoramiento genético. Lamentablemente, durante el mejoramiento genético del jitomate se ha manejado una base genética estrecha lo que limita el éxito de los programas, debido a que muchas veces es difícil encontrar los genes de resistencia necesarios en las variedades cultivadas. Según Miller y Tanksley (1990) la mayor diversidad del jitomate se encuentra en las especies silvestres y estos a su vez a los diferentes hábitats, presentando variabilidad en sus características de calidad de fruto como tamaño, sabor, aroma, color y textura. Por otro lado Vallejo (1999) reporta que la mayoría de las evidencias históricas, lingüísticas, arqueológicas y etnobotánicas indican que la región de

Veracruz y Puebla, en México, es el centro de domesticación del tomate. Las formas silvestres de "tomate cereza", *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*, originarias del Perú, migraron a través del Ecuador, Colombia, Panamá y América Central hasta llegar a México, donde fue domesticado por el hombre. Los jitomates silvestres se distribuyen desde el nivel del mar hasta las tierras altas y húmedas de los andes. Esta diversidad de hábitats o nichos ecológicos han contribuido a la gran variabilidad genética que se puede encontrar entre los jitomates silvestres (Nuez, 1999). No obstante su amplia distribución, hay poca documentación acerca del potencial genético y su aprovechamiento directo o como fuente de genes para el mejoramiento genético. Aunado a esto, existe el problema de que las especies silvestres están en riesgo creciente de desaparecer, a causa de la sobreexplotación y a la pérdida de su hábitat, por lo que su estudio y conservación son de vital importancia. En respuesta a toda esta problemática, se ha documentado que la caracterización, conservación y uso del germoplasma silvestre de jitomate inició en Estados Unidos desde el año 1930 (Rick, 1986), pero poco se ha hecho en México al respecto. Antes de promover su utilización en el mejoramiento genético, es necesario conocer la variabilidad que se conserva *in situ*. Para ello, la comunidad científica puntualiza la necesidad de caracterizar morfológica y agronómicamente a las colecciones de germoplasma, debido a la importancia de este tipo de investigaciones en los programas de mejoramiento genético. Se entiende por caracterización a la descripción y documentación de la variación que existe en las colección de germoplasma, en términos de características morfológicas y fenológicas que presentan alta heredabilidad (Hinthum, 1995). Así mismo, una vez que los recursos fitogenéticos disponibles han sido caracterizados, es posible decidir cuáles accesiones serán utilizadas en los programas de mejoramiento para realizar las cruza y aumentar la expansión de la base genética (Florida *et al.*, 2002). Por lo antes expuesto, a través de este estudio, se exploró la diversidad genética en invernadero de 145 accesiones de jitomate silvestre, con el objetivo de seleccionar genotipos con base en caracteres de interés agronómico, que sirvan en los programas de

mejoramiento genético del jitomate cultivado. Para dicho propósito se seleccionaron algunos caracteres de los descriptores para el jitomate según Biodiversity International que permiten una discriminación de los fenotipos, siendo generalmente caracteres altamente heredables.

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 145 accesiones de jitomate silvestre recolectados en regiones templadas, tropicales y subtropicales de los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Puebla que fueron localizadas a orilla de carreteras y caminos, en lugares de vegetación cercana a las comunidades y en cultivos de maíz *Zea mays* L. (Cuadro 6). El experimento se estableció en instalaciones de la Universidad Autónoma Chapingo bajo condiciones de invernadero rústico sin calefacción y con cubierta de plástico, donde las plantas fueron manejadas bajo un sistema de ferti-irrigación. La Universidad se localiza en el Estado de México, entre las coordenadas 19° 29'12.57" LN, 98° 53'49.94" LO, a 2252 msnm. La zona presenta un clima templado sub-húmedo y la temperatura media oscila entre 22 y 28 °C. El clima se clasifica como C Wo w b (y) g (García, 1988).

3.3.1. Recolección de accesiones

Los criterios de selección y recolección de las accesiones fueron: a) que los especímenes provinieran de plantas y sitios diferentes, además de encontrarse productivas y sanas, independientemente de que estuvieran asociadas con otras especies de interés agronómico o a la vegetación natural en el momento de la colecta. Esto, con la finalidad de obtener semillas viables para su posterior propagación en invernadero; b) el número de plantas a las que se les tomó una muestra mínima de 10 frutos fue de 3 a 15, por accesión, y esto dependió del número de ejemplares encontrados en los sitios de muestreo; c) simultáneamente se tomaron datos de las variables correspondientes a la ubicación geográfica con la ayuda de un GPS Modelo 2000, como pendiente,

altitud, asociación con tipo de vegetación o especies de interés agronómico, color del suelo e índice de pedregosidad en el lugar de la muestra, dicha información se registró en los datos de pasaporte. Para verificar el estado de madurez de los frutos se observó la coloración de los mismos y se removió una muesca de la superficie externa del fruto con el propósito de observar la coloración de la semilla, considerando una coloración amarilla u oscura de la episperma. Las semillas cosechadas se etiquetaron y se envolvieron en bolsas de papel para trasladarse a las instalaciones donde se desarrollaría el experimento.

Para la caracterización morfológica, se seleccionaron descriptores propuestos por Biodiversity International para el jitomate, tal como se describen en el Cuadro 7.

3.3.2. Establecimiento del ensayo

La caracterización inició con el establecimiento del semillero, para lo que se emplearon las semillas de los frutos colectados, mismas que se sembraron en charolas de germinación, utilizando como sustrato 'cosmo peat'. Se sembró una semilla por compartimiento a una profundidad no mayor de 4 mm. La germinación comenzó 5 días después de la siembra para la mayoría de las colectas. Las plántulas permanecieron en las charolas por un periodo de 30 días hasta su transplante en bolsas de plástico negras de 30 x 30 cm conteniendo tezontle como sustrato; asignando una planta por bolsa. En el invernadero las plantas se establecieron bajo un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones.

Cuadro 6. Datos de pasaporte de las colecciones de jitomate silvestre.

Accesiones	Características de los frutos	Características de los lugares de colecta	Hábito de crecimiento	Coordenadas de sitios de colecta
C1,C2,C3,C4,C5,C8,C9,9A,C10,C100,C101,C115,C121,C122,C150,C300A,C313A,C313B,C3A,C4A,C4AA,CX,CX.ACA.,CXAL,P9,P11,C76,C200,C200A,CXAL2C221,C222,C63,C87,C61,C64C69,C69B,C73,C73A,C75,C79,C86,C51,P4,213,C213A,C14A,C50A,C199,C300,C301C90,C91,C91A	Frutos de pequeños a grandes Redondos. Rojos, amarillos, azules y arriñonados.	Pertenecen al estado de Guerrero . Altitud entre los 0-3620 m.s.n.m. Pendientes de 0-60 %. Tipos de suelo: regosoles, cambisoles y arenosoles. Asociación con vegetación o cultivo: selva baja caducifolia, encino, encino –pino, mesófilo de montaña.	Dominio de crecimiento indeterminado	18°41'49.69"N 101°55'10.42"O y 16°16'01.53"N 98°32'27.02"O
C83,C84,C98,C299,C381,P28,P8,C230,C231,P15,C11,C12,C14,C15,C17,C18,C19,C20,C24,C38,C44,C44A,C53,C57,C62,C65,C65B,C68	Frutos de pequeños a medianos. De colores rojo, rojos pálidos, rosas y amarillos. Predominio de formas redondas y alargadas.	Pertenecen al estado de Puebla . La altitud oscila en 1199-2267 m.s.n.m. Pendientes de 0-40 %. Tipos de suelo: leptosoles, cambisoles y regosoles. Asociación con vegetación pino.	Dominio de crecimiento indeterminado	19°18'03.59"N 98°35'03.53"O y 18°26'53.92"N 97°32'55.82"O
C81,C188,CPTC,P2,P7,C217,C66,C67,P32,C70,C71C72,C77,C78,C82,C85,C88,C97,C97B,C99,C160,C160B,C176,C180,C183,C190,C193,C194,C216,C253B,C2XC53B,C5A	Fruto pequeños. Rojos, amarillos y anaranjados. Crecimiento indeterminado a determinado.	Pertenecen al estado de Michoacán . La altitud oscila en 0-2166 m.s.n.m. Pendientes de 0-40 %. Tipos de suelo: vertisoles, regosoles, cambisoles y livisoles. Asociación con vegetación selva baja caducifolia, encino, encino –pino.	Dominio de crecimiento indeterminado	19°58'46.77"N 102°09'38.45"O y 17°56'19.89"N 102°11'22.72"O
C381,P3,C214,C216A,C75B,C288,C231B,P1,P5,P6,P10,P11,P12,P13,P14,P16,P17,P18,P19,P20,P21,P22P29,P23,P30,P31,P33,P34	Frutos pequeños. Redondos y arriñonados. Rojos, rojos pálidos y amarillos.	Pertenecen al estado de Oaxaca . La altitud oscila en 0-2165 m.s.n.m. Pendientes de 0-50%. Tipos de suelo: leptosoles, regosoles, cambisoles y arenosoles. Asociación con vegetación o cultivo: selva baja caducifolia, encino, encino –pino.	Dominio de crecimiento indeterminado	17°48'42.93"N 98°22'12.94"O y 16°10'01.78"N 94°05'31.31"O

Cuadro 7. Lista de descriptores cuantitativos y cualitativos evaluados durante la caracterización morfológica de accesiones de jitomate silvestre.

Parte de la planta	Variable	Carácter cuantitativo	Variable	Carácter cualitativo	Unidad	¹ Escala
Planta	X3	Altura de planta (cm)	X18	Tipo de crecimiento de la planta	Arbitrario	1-4
	X4	Peso de primera cosecha (g)	X21	Habito de crecimiento	Arbitrario	1-2
Hoja	X7	Número de ramas				
	X8	Número de frutos				
	X1	Área foliar (cm ²)				
	X2	Perímetro foliar (cm)				
	X14	Color de hoja: L				
Fruto	X15	Color de hoja: a				
	X16	Color de hoja: b				
	X5	Peso de fruto (g)	X19	Forma del fruto	Arbitrario	1-9
	X6	°Brix.	X20	Color a la vista	Arbitrario	1-7
	X9	Longitud de fruto (mm)				
	X10	Diámetro de fruto (mm)				
	X11	Color de fruto: L				
	X12	Color de fruto: a				
	X13	Color de fruto: b				
	X17	Vida de anaquele (días)				

¹X18= enano (1), determinado (2), semi-determinado (3), indeterminado (4); X19= achatado (1), ligeramente achatado (2), redondeado (3), redondo alargado (4), cordiforme (5), cilíndrico (6), piliforme (7), elipsoide (8), arriñonado (9); X20= rojo (1), amarillo (2), anaranjado (3), rojo/negro (4), rojo pálido (5), rosa (6), azul (7); X21= determinado (1), indeterminado (2).

3.3.3. Análisis estadístico de las variables morfológicas

Con el propósito de analizar estadísticamente los caracteres morfológicos evaluados, los datos obtenidos se usaron para construir una matriz en Excel para luego realizar un análisis de correlación entre todas y cada una de las variables evaluadas con la intención de eliminar aquellas con información redundante, mediante el programa estadístico SAS (SAS Institute, Cary NC Version 9). Posteriormente, se llevó a cabo un análisis de componentes principales por el método de la matriz de correlaciones y uno de conglomerados por agrupación jerárquica utilizando el programa NTSYSpc versión 2.21q.

3.3.4. Color de hoja y frutos y sólidos solubles

Se cosechó de entre el tercero y quinto racimos una muestra de 200 a 400 g de frutos por colección y de esta se seleccionaron frutos completamente maduros (estado de color 6, USDA), firmes al tacto y sanos, considerando criterios basados en Raffo *et al.* (2002), como se ilustra en la Figura 3.



Figura 3. Frutos maduros de jitomates silvestres recolectados en los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Puebla.

El color de las hojas y frutos se evaluó usando un fotocolorímetro portátil Mini Scan (HunterLab, modelo MS/B-200S®, USA), con lecturas en la escala CIE de L^* , a^* y b^* .

El contenido de sólidos solubles en jugo se cuantificó con un refractómetro (Atago modelo 3T®, Japan) y se expresó en °Brix. Todas las determinaciones se realizaron con 10 repeticiones para cada accesión.

3.4. RESULTADOS

Las 145 colectas de jitomate silvestre evaluadas mostraron variabilidad a nivel de hojas y frutos como se muestra en las Figuras 4A, 4B, 4C y 4D.



Figura 4. Variabilidad morfológica detectada en jitomates silvestres. A, diferencias en forma de las hojas; B, variabilidad de formas de fruto; C, variabilidad de colores de frutos y D, diferencias en tamaño de los frutos.

Durante la caracterización morfológica se clasificaron las accesiones con base en su similitud morfológica. Se analizó un total de 21 variables (Cuadro 7) se elaboro una base de datos con el programa Excel, separar las variables en diecisiete cuantitativas y cuatro cualitativas. En el Cuadro 8 se muestran los valores promedio de las variables evaluadas para todas las accesiones, valores máximos y mínimos y la desviación estándar. Los datos indican la existencia de amplia variabilidad para todas las características.

Cuadro 8. Valores mínimos y máximos de los caracteres evaluados en las accesiones de jitomates silvestres.

Variable	Media	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Unidades
Área foliar	443.0	178.7	92.52	1034.15	cm ²
Perímetro de la hoja	513.5	253.6	72.19	1346.72	cm
Altura de planta	276.2	94.5	30.00	708.00	cm
Peso de 1ª cosecha	471.8	429.8	6.40	3210.00	gramos
Peso del fruto	23.0	31.5	0.60	230.00	gramos
°Brix	6.9	4.0	2.70	13.40	°Brix
Número de ramas	41.0	37.6	2.00	168.00	Unidad
Número de frutos	291.2	402.3	2.00	42.00	Unidad
Largo de frutos	27.5	13.5	7.61	93.50	mm
Ancho de frutos	27.5	14.2	5.90	89.00	mm
Color de fruto (L)	36.1	11.7	-15.90	89.00	Esp. CIE Lab
Color de fruto (a)	44.9	14.1	-19.08	88.19	Esp. CIE Lab
Color de fruto (b)	34.3	13.2	-32.90	66.38	Esp. CIE Lab
Color de hoja (L)	60.3	11.9	17.69	77.90	Esp. CIE Lab
Color de hoja (a)	-23.3	10.1	-48.81	28.00	Esp. CIE Lab
Color de hoja (b)	21.3	10.9	-4.47	36.20	Esp. CIE Lab
Vida de anaquel	19.4	14.2	1.00	130.00	Días
Tipo de crecimiento			1.00	4.00	Sin unidad
Forma de fruto			1.00	9.00	Sin unidad
Color de fruto			1.00	7.00	Sin unidad
Hábito de crecimiento			1.00	2.00	Sin unidad

Esp. CIELAB = Espacio de color. Los valores de la tabla corresponden al conjunto de los genotipos evaluados.

3.4.1. Análisis de variables morfológicas cuantitativas

Se realizó un análisis de correlación entre las variables evaluadas. En el Cuadro 9 se muestra la matriz de correlación con algunos valores altamente significativos ($p < 0.0001$). Una correlación positiva y significativa ($r = 0.684$) se presentó entre las variables perímetro promedio de la hoja (X2) y altura de la planta (X3); otra se observó entre el diámetro de fruto (X10) y color de fruto L (X11) con un valor de ($r = 0.720$) y entre el peso de la primera cosecha (X4) y el número de frutos (X8) con una ($r = 0.309$). Debido a que los valores de correlación obtenidos no fueron muy altos (cerca de 1.0) entre la mayoría de las variables, ello se consideró como indicador de no existencia de información redundante entre las mismas y por lo tanto, se consideraron todas las variables para explicar la variabilidad morfológica que aportan cada una.

También, algunas variables mostraron valores de correlación negativos y significativos (Cuadro 9), como por ejemplo diámetro del fruto (X10) y número

de frutos (X8) ($r = -0.512$). Por otro lado se tiene que los °Brix (X6) y vida de anaquel (X17) presentaron una ($r = -0.217$). Esto indica que cuando se incrementó el valor de alguna de estas variables su contraparte se vio afectada negativamente.

Cuadro 9. Valores de correlación y nivel de significancia entre las variables cuantitativas evaluadas.

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15	X16	X17
X1	1																
X2	-0.228**	1															
X3	-0.212**	0.684**	1														
X4	-0.011ns	-0.087ns	0.010ns	1													
X5	0.117ns	0.286**	0.277**	-0.130**	1												
X6	0.055ns	0.345**	0.016ns	-0.260**	0.072ns	1											
X7	0.195**	-0.169**	-0.174**	0.101**	-0.106**	0.419**	1										
X8	0.047ns	-0.360**	-0.347**	0.309**	-0.231**	-0.211**	0.151**	1									
X9	0.087ns	0.013ns	-0.055ns	0.032ns	-0.005ns	-0.091ns	0.021ns	-0.088ns	1								
X10	-0.045ns	0.393**	0.298**	-0.417**	0.260**	0.330**	-0.193**	-0.513**	0.058ns	1							
X11	-0.033ns	0.450**	0.393**	-0.311**	0.261**	0.236**	-0.244**	-0.418**	-0.091ns	0.720**	1						
X12	0.186**	-0.046ns	-0.005ns	0.121**	0.129**	-0.066ns	0.074	-0.013ns	0.030ns	-0.034ns	-0.021ns	1					
X13	-0.220**	0.154**	0.169**	-0.048ns	0.071ns	-0.020ns	-0.128**	0.001ns	-0.204**	0.033ns	0.073ns	-0.210**	1				
X14	0.052ns	0.041ns	0.083ns	0.117**	-0.039ns	0.067ns	0.122**	-0.107**	-0.038ns	-0.031ns	-0.107**	0.073ns	-0.173**	1			
X15	-0.135**	0.055ns	0.035ns	0.179**	0.097ns	-0.198**	-0.053ns	0.065ns	0.017ns	-0.166**	-0.020ns	0.117**	0.017ns	-0.002ns	1		
X16	-0.040ns	-0.068ns	-0.159**	-0.136**	-0.048ns	0.473**	0.186**	-0.064ns	-0.034ns	0.172**	-0.059ns	-0.183**	-0.026ns	0.100ns	-0.326**	1	
X17	0.139**	0.162**	0.092ns	-0.078ns	0.032ns	-0.217**	-0.168**	-0.023ns	0.024ns	0.009ns	0.177**	0.007ns	0.029ns	-0.111**	-0.106**	-0.352**	1

X1 = Área foliar; X2= Perímetro; X3 =Altura; X4= Peso de la primera cosecha; X5= Peso de fruto; X6= °Brix; X7= Número de ramas; X8= Número de frutos; X9= Longitud de fruto; X10= Diámetro de fruto; X11= Color de fruto L; X12= Color de fruto a; X13= Color de fruto b; X14= Color de hoja L; X15= Color de hoja a; X16= Color de hoja b; X17= Vida de anaquel. ns= valores estadísticamente no significativos; **= valores estadísticamente significativos, $p < 0.0001$.

Para seleccionar las variables cuantitativas más importantes se hizo un análisis de las mismas utilizando una regresión progresiva hacia adelante denominada Stepdisc con la metodología forward y un nivel de significancia de 0.05. El valor de probabilidad de F se comparó con el valor de significancia indicado para la entrada de la variable en el modelo. Una vez efectuado el análisis, el programa detectó valores de F significativos, dando como resultado las variables seleccionadas, en donde solamente se tomaron en cuenta las primeras 10 para posteriores análisis: color de hoja a (X15), número de frutos (X8), área de hoja (X1), diámetro de fruto (X10), longitud de fruto (X9), perímetro de hoja (X2), peso de fruto (X5), vida de anaquel (X17), número de ramas (X7) y color de fruto a (X12).

3.4.2. Análisis de componentes principales con datos de variables cuantitativas

Con los datos de las variables seleccionadas se realizó un análisis de componentes principales (CP). En el Cuadro 10 se indican los valores propios (eigen-valores), el porcentaje de variación explicada por cada componente y el porcentaje de variación explicada acumulada para los tres primeros componentes principales. Los tres primeros componentes principales, explicaron el 89.67 %, de la variación morfológica total observada entre los jitomates silvestres evaluados.

Cuadro 10. Componentes principales, eigen-valores y porcentaje de variación explicada y acumulada en la formación de grupos de accesiones de jitomate silvestre usando datos de variables cuantitativas

CP	Valor propio (eigenvalor)	Variación explicada (%)	Variación explicada acumulada (%)
1	96.89	66.82	66.82
2	18.60	12.83	79.65
3	14.52	10.02	89.67

En el Cuadro 11 se indican las variables que contribuyeron en mayor proporción a la variación explicada por los componentes principales. Para el primer componente principal (CP1) las variables que más aportaron al ordenamiento y clasificación de las accesiones fueron el color de la hoja (a), área de la hoja, número de frutos, color de la hoja (b), altura de la planta y el peso del fruto. Al CP2 las variables que más contribuyeron fueron el color de hoja (L), diámetro de fruto, parámetros de color L, a y b del fruto; y al CP3, el perímetro de la hoja, la vida de anaquel, número de ramas y el peso de la primera cosecha (Cuadro 11).

Mediante un análisis de conglomerados se pudo observar que las 145 accesiones se ordenaron en 8 grupos diferentes, como se muestra en la gráfica en dos dimensiones por los dos primeros componentes principales (Figura 5A).

Cuadro 11. Variables cuantitativas que determinan a los componentes principales y su valor de contribución.

Variable	Característica	CP1	CP2	CP3
X1	Área de la hoja	-0.373	0.045	0.224
X2	Perímetro de la hoja	-0.090	-0.086	0.543
X3	Altura de planta	0.274	-0.159	0.128
X4	Peso de cosecha	-0.144	-0.024	0.414
X5	Peso de fruto	0.306	-0.092	0.186
X6	Grados Brix	0.217	0.190	0.084
X7	Número de ramas	-0.236	-0.043	-0.358
X8	Número de frutos	-0.409	0.021	0.165
X9	Longitud de fruto	0.223	-0.107	-0.003
X10	Diámetro de fruto	0.099	0.424	0.095
X11	Color de fruto L	0.057	0.430	0.064
X12	Color de fruto a	0.033	0.400	-0.098
X13	Color de fruto b	0.199	0.376	0.009
X14	Color de hoja L	0.065	0.440	-0.010
X15	Color de hoja a	0.410	-0.128	0.013
X16	Color de hoja b	-0.359	0.134	-0.036
X17	Vida de anaquel	-0.022	0.062	0.492

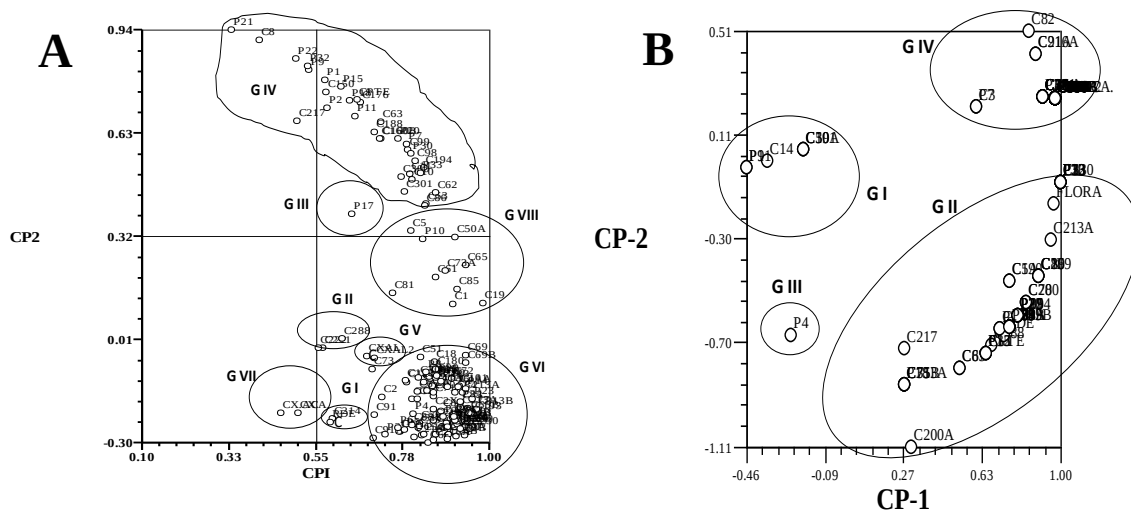


Figura 5. Gráfica en dos dimensiones donde se observa los grupos formados por las colecciones de jitomates silvestres, utilizando datos de las variables morfológicas cuantitativas (A) y cualitativas (B) mediante un análisis de componentes principales separados.

El grupo I se formó con las accesiones C214 y RDE, cuyas características son de jitomates rojos, área foliar de grande a medianas, frutos redondos de tamaño de mediano a grande y de crecimiento determinado a indeterminado. El grupo II se formó con las accesiones representadas por C288, C221, y C222 por

mentar algunas; y estas se caracterizaron por presentar frutos pequeños, rojos, diámetro pequeños y escasos, área foliar de mediana a grande, plantas de altura media a alta. El grupo III incluyó solo a la accesión P17, que se caracterizó por tener frutos redondos, área foliar pequeña, pocos frutos pequeños, color de hojas (a) verde claro y color de hojas (b) ligeramente amarillas.

En el grupo IV sus representantes más importantes fueron: P15, PTE, C63, C62, P21, P2, P11, P9, P32, P22, P1, P30 C301, C300 y C86, con características de peso de fruto menores que los del grupo III, se incrementa el número de frutos por racimo, disminuyen los valores de color rojo que van de rojo a verde (color de fruto a), valores de color de fruto L negativos (colores negros) y los colores verdes de las hojas son menos intensos (color de la hoja b). Las accesiones representativas del grupo V fueron C69, C91, C69B, C51, C2, y P4, cuyos frutos son de color rosa a color rojo intenso (color de fruto a), de igual tamaño que los del grupo IV pero con un aumento en el número de frutos asociado con formas de fruto que van de redondas a arriñonadas. El grupo VI lo integraron algunas accesiones como: P22, P21, C63, C62, C301, PTE, P15 con formas de fruto redondas y tipo uva, color de hojas (a) claras, peso de frutos de medianos a pequeños, con gran número de frutos, área foliar de mediana a pequeña, color de frutos (L) claros y altura de plantas de pequeñas a grandes. Las dos únicas accesiones representativas del grupo VII fueron ACA y CX, con pocos frutos, redondos, de tamaño pequeño, de color rojo, área foliar pequeña, color de fruto (L) claros y plantas muy altas. Finalmente, el grupo VIII incluyó accesiones que se caracterizaron por presentar área foliar pequeña, un número de frutos abundantes, con colores de fruto amarillos, anaranjados y rojos, plantas muy altas, formas de fruto redonda, ovoides y de tipo uva en su mayoría. Además presentan diámetro de fruto pequeño. Los mejores representantes de este grupo fueron: P10, C5, C50, C73, C61, C1, C85, C81, y C19.

3.4.3. Análisis de conglomerados usando datos de variables cuantitativas

Utilizando el programa NTSYSpc VER 2.21q y con un coeficiente de distancia DIST se obtuvo un árbol consenso (con 1000 remuestreos) (Figura 6A). En el dendrograma de la Figura 6A, se formaron cuatro grupos, donde el grupo I se dividió en dos subgrupos. El subgrupo GIA tuvo como representante única la accesión C230 cuyas características fueron frutos de forma redonda alargada, color rojo, frutos grades, área y perímetro grande. Por otro lado el subgrupo GIB se conformó de veintidós accesiones y sus representantes principales fueron C200, C75B, C75, C69B, C12, C9, C14A y P4 de colores rojo, rosas, rojo pálido, formas de fruto redondo - arriñonadas, color de hojas (a) claras, peso de frutos de grandes a pequeños, con gran número de frutos, área foliar de grande a pequeña, color de frutos (L) claros y altura de plantas de pequeñas a grandes. El grupo II lo forman las accesiones C82, P12 y sus características principales son frutos pequeños, color rojo intenso, redondo y redondo alargado, plantas altas, área y perímetro foliar mediano. El grupo III se caracteriza por tener un solo representante siendo este C299 y los frutos exhibían colores rojo intenso, fruto pequeño, área y perímetro foliar mediano, forma arriñonada y plantas muy altas. El grupo IV se subdivide en dos subgrupos. El subgrupo GIVA lo conformaron quince accesiones con características de pocos frutos, redondos, de tamaño pequeño a grande, de color rojo a amarillos, área foliar de pequeña a mediana, color de fruto (L) claros y plantas muy altas. Los representantes más importantes fueron: C53B, C70, P6, XACA, CX, C381, C4A, C4, C5A, P3, C216 y C76. Finalmente el subgrupo GIVB lo conforman 104 accesiones y se caracterizaron por presentar área foliar pequeña, un número de frutos abundantes, con colores de fruto amarillos, anaranjados, azules y finalmente rojos, plantas muy altas, formas de fruto redonda en su mayoría y diámetro de fruto pequeño. Los representantes principales fueron: P5, C100, C101, C50A, C300, 231, P9, P11, PTE, C188, C8, C71, C51, C67.

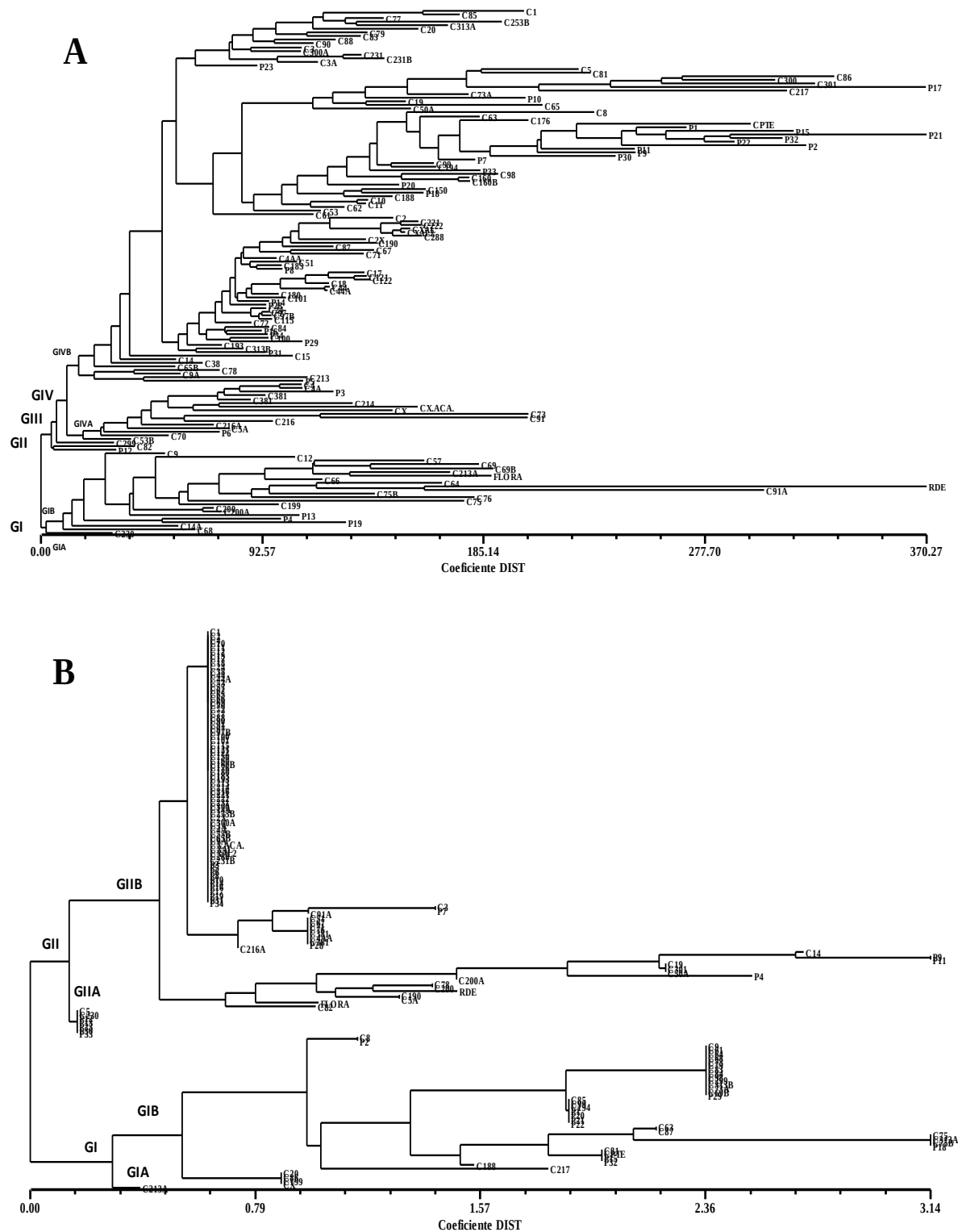


Figura 6. Dendrograma de relaciones entre las 145 accesiones de jitomate utilizando el método de agrupamiento Neighbor Joining para variables cuantitativas (A) y cualitativas (B) separadamente.

3.4.4. Análisis de componentes principales con datos de variables cualitativas

Los descriptores cualitativos (Cuadro 7) se sometieron a un análisis de correlación (Cuadro 12) y a un análisis de componentes principales (Cuadro 13).

El análisis de correlación (Cuadro 12) indicó asociación alta positiva y significativa ($r = 0.724$) entre las variables tipo de crecimiento (X18) y hábito de crecimiento (X21) y por ende se eliminó una de ellas debido a que presentan información redundante para el análisis de componentes principales.

Cuadro 12. Valores de correlación y nivel de significancia entre las variables cualitativas.

Variable	X18	X19	X20	X21
X18	1.0			
X19	0.137ns	1.0		
X20	0.021ns	0.207ns	1.0	
X21	0.724**	0.085ns	-0.055ns	1.0

X18= tipo de crecimiento, X19= forma, X20 = color y X21 = hábito de crecimiento, ns= No significativo; **= Altamente significativo, $p < 0.0001$.

En el Cuadro 13 se observa que cuatro componentes principales explican el 100 % de la variabilidad morfológica cualitativa presente en los genotipos silvestres de jitomate. El CP1 explica el 43.97 % de la variación, el CP2 el 29.76 %, el CP3 el 19.43 % y el CP4 el 6.85 %.

Cuadro 13. Componentes principales, eigen-valores, y porcentaje de variación explicada y acumulada en la formación de grupos de accesiones de jitomate silvestre usando datos de variables cualitativas.

CP	Valor propio (eigen-valores)	Diferencia	Variación explicada (%)	Variación acumulada (%)
1	1.76	0.57	43.97	43.97
2	1.19	0.41	29.76	73.72
3	0.78	0.50	19.43	93.15
4	0.27		6.85	100.00

En la Figura 5B se muestra la formación de cuatro grupos de accesiones según los componentes principales 1 y 2, que juntos explican el 73.72 % de la variación detectada en los genotipos. El grupo I se integró en su mayoría con

accesiones que presentaron color de frutos rojo pálido y azules, además de mostrar formas redondas y crecimiento indeterminado. El grupo II incluyó genotipos con frutos de colores rojos, rojo pálido y rosas; de formas arriñonadas y redondas, con hábitos de crecimiento indeterminado y determinado. El grupo III se formó con materiales con colores de fruto rojos, amarillos y anaranjados. Finalmente, el grupo IV tuvo accesiones con colores de fruto rojos, amarillos y anaranjados en su mayoría, forma de fruto redondo y arriñonado, con tipo de crecimiento indeterminado y determinado.

En el Cuadro 14 se presentan las variables morfológicas cualitativas que más aportaron a cada componente principal para el ordenamiento y clasificación de los genotipos. Estas fueron tipo de crecimiento (X19), forma de fruto (X20) y color de fruto (X21), que contribuyeron al CP1, CP2 y CP3, respectivamente.

Cuadro 14. Valor de contribución de variables morfológicas cualitativas a cada componente principal para la diferenciación de grupos de las colectas de jitomate silvestre.

Variable	CP1	CP2	CP3
X19	0.693	-0.098	0.080
X20	0.218	0.654	-0.722
X21	0.057	0.730	0.680

X19= tipo de crecimiento, X20= forma de fruto, X21= color de fruto

3.4.5. Análisis de conglomerados usando datos de variables cualitativas

Utilizando el programa NTSYSpc VER 2.21q y con un coeficiente de distancia DIST se obtuvo un árbol consenso (con 1000 remuestreos). En la Figura 6B se observa que el grupo I se subdivide en dos subgrupos. El subgrupo GIA cuenta con una sola accesión y esta fue el C213A y sus características fueron frutos rojos, tamaño mediano, forma de fruto redondeado, habito de crecimiento indeterminado (plantas altas). El subgrupo GIB consistió en treintaisiete accesiones y se caracterizó por presentar frutos rojos, rosas y anaranjados, crecimiento indeterminado, formas redondas, tipo uva, alargadas y arriñonadas. Los representantes más sobresalientes de este subgrupo fueron los genotipos: CX, C20, C86, C199, C8, P2, C188, C217, C63, C69, C85, P22. El grupo II se subdivide en GIA y GIB. El subgrupo GIA estuvo integrado por 6 accesiones

y se caracterizó por presentar frutos rojos, de formas ovoides, redondos, alargados y de crecimiento indeterminado. Entre las accesiones más representativas se incluyen a C5, C230, P33, P12. Finalmente el subgrupo GIBB incluyó ciento uno accesiones y se caracterizó por presentar frutos de color rojo intenso, amarillos, azules, de forma redonda, arriñonados, ovoides y de hábito de crecimiento indeterminado a determinado. Los representantes más importantes del subgrupo son: C216, C82, C5A, C190, C200, C200A, C78, C381, P28, C76, C3, P7, C190, P11, P9 y CX.ACA, por mencionar algunos.

3.5. DISCUSIÓN

El propósito principal de esta investigación fue caracterizar y diferenciar las accesiones de jitomate silvestre en base a variables morfológicas cuantitativas y cualitativas (Cuadro 7), a fin de seleccionar genotipos con características de interés agronómico y tomar decisiones correctas al definir variables que contribuyan a su diferenciación. Es por ello, que fue fundamental someter las variables a pruebas estadísticas rigurosas. Los resultados del presente trabajo indicaron que las colecciones de jitomates silvestres presentan variabilidad para los diferentes caracteres evaluados, mismos que permiten diferenciarlas. En lo referente a las variables longitud de fruto (X9) y ancho de fruto (X10) las 145 accesiones presentaron valores mínimos y máximos de (7.61 y 93.50) y (5.90 y 89.0) milímetros, respectivamente (Cuadro 8). Los valores mínimos correspondieron a jitomates silvestres tipo 'cherry' y los máximos a los tipos 'bola' y 'saladete'. Al respecto, Nuez (1999) describe que los tomates tipo 'cherry' se caracterizan por producir frutos de tamaño muy pequeño, de 1.0 a 3.0 cm de diámetro. El análisis de los materiales realizado en el presente trabajo coincide parcialmente con lo reportado por este autor, aunque la mayoría de las accesiones tipo 'cherry' mostraron diámetros superiores, manifestando algunas diferencias. Según Tigchelaar (1986), las variables diámetro de fruto y ancho de fruto, son indicadores del tamaño y forma de los mismos.

Las accesiones presentaron también variaciones importantes en los valores de sólidos solubles (X6) en un rango de 2.70 a 13.4 °Brix (Cuadro 8). Estos

resultados sugieren que existen genotipos silvestres que pudieran utilizarse en programas de mejoramiento genético para incrementar el contenido de sólidos solubles en variedades comerciales que normalmente lo tienen bajo. Trabajos realizados en Costa Rica indican que la mayoría de las variedades comerciales de tomate presenta valores entre 4.0 y 5.0 °Brix (Pérez *et al.*, 2012; Shirahige *et al.*, 2009). También, en la India, se evaluaron los °Brix en 14 genotipos de jitomate y estos variaron entre 3.0 y 4.86 (Kumar *et al.*, 2006). Por otro lado, en Brasil se realizó también un ensayo sobre la misma variable y esta osciló entre 5.93 y 7.49 °Brix, dependiendo de la frecuencia de riego, siendo mayor cuando la planta solo recibió un riego por día (Pires *et al.*, 2011). Además, Castellanos (2009) señala que si los °Brix en jitomate presentan valores superiores a los 4.5 estos se consideran de calidad aceptable y corresponden a frutos de buen sabor, mientras que si estos son menores a 4.0 °Brix se relacionan con una calidad no aceptable. Finalmente, en Francia se encontró que los tomates “cherry” tenían un mayor contenido de sólidos solubles (7.2 °Brix), en comparación con tomates medianos y grandes (4.6 a 4.7 °Brix) (Causse *et al.*, 2003). La información obtenida en el presente ensayo coincide en parte con la de los autores anteriormente mencionados. Es importante destacar que entre nuestras accesiones algunas sobrepasaron los 13 °Brix, mismas que pueden ser aprovechadas en programas de mejoramiento genético para incrementar la calidad de fruto. En especies hortícolas como el jitomate además del rendimiento es importante considerar parámetros de calidad durante la selección y mejoramiento de un genotipo.

El rendimiento es una característica que presenta mucha variabilidad en los genotipos evaluados, por lo que no puede ser considerado como un marcador morfológico. Sin embargo, en este trabajo se consideró con la intención de identificar a las mejores accesiones en términos de esta variable. Los valores de esta característica pueden cambiar según el genotipo, las condiciones ambientales, la presencia de plagas, enfermedades, la densidad de siembra y el manejo. Por lo que la variable peso de frutos a la primera cosecha (X4) osciló entre 6.40 y 2330.0 g por planta (Cuadro 8). Las mejores representantes de

esta característica son los materiales C73, C91 y C76, con pesos en gramos de 2330.0, 2145.0 y 2085.0, respectivamente.

En lo que se refiere al hábito de crecimiento, se observó que el 92.75 % de los materiales caracterizados tienen crecimiento indeterminado, mientras que el resto (7.25 %) lo tienen determinado (Cuadro 6). Florido *et al.* (2008) mencionan que en las accesiones de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* el crecimiento indeterminado es una característica típica de los jitomates silvestres, así como también, frutos pequeños con hombro verde y aplanado, además de cicatrices pendular y estilar pequeñas.

En cuanto al color de fruto, también hubo diferencias entre las accesiones (Figuras 3 y 4). El color de fruto rojo fue el predominante entre las accesiones (78.67 %), seguido del color anaranjado, amarillo, rojo pálido, rosas, rojo con negro y azul; en proporciones de 6.20, 5.51, 3.44, 3.44, 1.37 y 1.37 %, respectivamente. De acuerdo con lo reportado por Florido *et al.* (2002), esta característica se debe principalmente a la presencia de carotenoides más que a las antocianinas. Así mismo, Pratta *et al.* (2003) encontraron que uno de los mayores atractivos para cualquier producto es su diversidad. Al respecto también se hace mención que de acuerdo al dendrograma (Figura 6 B) de las variables de tipo cualitativas, el color de fruto indicó que el grado de relación que existe entre los jitomates rojos y azules es más cercano que el que existe, entre los jitomates rojos con amarillos y rojos con anaranjados.

La forma de fruto predominante fue la redonda, presentándola el 65.51 % de los genotipos. Pratta *et al.* (2003) encontraron que los frutos de los materiales silvestres *S. lycopersicum* var *cerasiforme* y *S. pimpinellifolium* tienen formas esféricas, a diferencia de los cultivares híbridos dentro de la variedad doméstica, en los que la altura del fruto fue menor que el diámetro. Para los materiales que evaluamos ello no es del todo compartido puesto que existen genotipos con formas ovaladas o arriñonadas o de un tipo diferente. El 12.42, 8.96, 6.20, 4.82, 0.68 y 0.68 % de los materiales exhibieron formas arriñonadas, elipsoides, redondeadas, cilíndricas, piliformes y achatadas,

respectivamente. Algunos frutos de las accesiones más representativas para la variable forma del fruto maduro se muestran en la Figura 4 B.

Una de las principales quejas de los consumidores de tomate en todo el mundo es que se han perdido características de calidad como sabor y aroma, pues la selección de nuevos genotipos ha privilegiado otras como rendimiento, larga vida de anaquel, apariencia externa y tolerancia a enfermedades (Causse *et al.*, 2003). Así mismo, Castellanos (2009) menciona que la calidad final del jitomate está definida por sus características nutricionales, químicas y físicas como la firmeza, por mencionar algunas. En el Cuadro 8 se muestra que el rango de la vida de anaquel de los frutos de los genotipos evaluados fue de 1 a 130 días. La variación de esta característica es muy grande. Según Castellanos (2009), los frutos maduros de tomate que tienen una firmeza igual o superior a 11 N se consideran muy firmes y como consecuencia tienen un periodo mayor de vida de anaquel. En nuestro trabajo desafortunadamente no medimos esa característica. Las accesiones que en nuestro estudio mostraron mayor vida de anaquel fueron C76, C50A, C19, P19 y P23.

El área foliar y el índice de área foliar son parámetros ampliamente utilizados en estudios de fisiología ecológica de cultivos (Coombs y Hall, 1982). Actualmente se han utilizado varios métodos para su determinación, que pueden clasificarse en destructivos (Dengler, 1984) y no destructivos, tanto indirectos como directos. Los métodos directos son los que utilizan medidores de área foliar, que son instrumentos diseñados con este propósito y tienen una resolución del orden de mm^2 (Licor LI-3000; Lincoln, Nebraska, U.S.A). Al respecto, en la presente investigación se utilizó un método indirecto a través de un programa llamado imageTool versión 3.0 y los resultados oscilaron en un rango de 72.19 a 1346.72 cm^2 . Por otro lado, al realizar el análisis de correlación entre todas las variables, se observó que existe correlación positiva y altamente significativa entre el área foliar y el número de frutos. Es decir que si aumenta el área foliar, aumenta el número de frutos. Además, se encontró correlación negativa entre el área foliar y el color del fruto en (b). Esto indica que al incrementarse el valor

del área foliar su contraparte se ve afectada negativamente a colores más oscuros, mejorando el color final del fruto.

3.6. CONCLUSIÓN

Las variables cuantitativas área foliar, color de hoja, número de frutos, peso del fruto, color de fruto b, color de fruto (a) y (L) determinaron la formación de cuatro grupos diferentes de jitomates silvestres. Las variables cualitativas más importantes que determinaron la diferenciación de los genotipos fueron el hábito de crecimiento, el color de fruto y la forma de fruto, generando dos grupos diferentes. En la mayoría de los jitomates silvestres evaluados se observó variabilidad morfológica presente y características interesantes de todo tipo que pueden ser aprovechadas en programas de mejoramiento genético.

3.7. LITERATURA CITADA

- Castellanos, J. Z. 2009. Manual de producción de tomate en invernadero. Celaya, Guanajuato, México: Intagri, S. C., pp. 118-156
- Causse, M., Buret, M., Robini, K., y Verschave, P. 2003. Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. *Journal of Food Science*, 68(7), 2342-2350.
- Coombs J., Hall D.O. 1982. Whole Plant Photosynthesis and Productivity. In: Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis. Pergamon Press, Oxford.
- Dengler N.G. 1984. Comparison of leaf development in normal (+/+), entire (e/e) and lanceolated (La/+) plants of tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill. «Ailsa craig». *Botanical Gazette*, 145, 66-77.
- Esquinas, A. J. y F. V. Nuez. 2001. Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate. En: El Cultivo del Tomate. F. Nuez. Mundi-Prensa. España. pp:13-42.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2016. FAOSTAT Producción agrícola [online]. Disponible en: www.fao.org/faostat/es/

- Florido, M.; Álvarez, M.; Lara, R.; Plana, D. Varela, M., Shagarodsky T. & Moya, C. 2008. Análisis de la variabilidad morfo-agronómica en la colección de tomate (*Solanum* L. sección *Lycopersicon* subsección *Lycopersicon*) conservada ex situ en Cuba. *Revista Cultivos Tropicales, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas Cuba*, 29(2), 43-48.
- Florido, M.; Álvarez, M.; Lara, R., Plana, D.; Varela M.; Shagarodsky T. y Moya, C. 2002. Caracterización morfo-agronómica y bioquímica de 20 accesiones de tomate (*Lycopersicon spp*). *Revista Cultivos Tropicales, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas Cuba*, 23(4), 61-69.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4ª. ed. UNAM. México.
- Hintum, T.J.L. Van. 1995. Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants. In: Core collections of plant genetic resources. Hodking , T., A.H.D. Brown, T.J.L. Van Hintum and E.A.V. Morales (eds.). John Wiley and Sons, New York. pp:23-34.
- Kumar, R., Mishra, N. K., Singh, J., Rai, G. K., Verma, A. & Rai, M. 2006. Studies on yield and quality traits in tomato (*Solanum lycopersicon* (Mill.) Wettstd.). *Vegetable Science*, 33(2), 126-132.
- Miller, J. y Tanksley, S. 1990. RFLP analysis phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics* 80:437-448.
- Organización de las Naciones Unidas para Alimentación y la Agricultura (FAO). 2012. Consulta: Febrero de 2017. <http://www.fao.org/statistics/databases/es/>
- Nuez, F. 1999. El cultivo del tomate. 2da ed. Ediciones Mundi-Prensa Libros., Madrid. España, pp.43-87.
- Nuez F, B Pico. 1997. Germplasm of tomato and wild relatives from genebank of the Polytechnic University of Valencia. In: Proc. 1st Intl. Conf. ON the Processing and 1st Intl. Symp. Tropical Tomato Diseases. 18-22 November, Recife, Pernambuco, Brazil. G Alves M, G M B Lopes, C Hayward, R R L Mariano, E A A Marahao (eds). The American Society for

- Horticultural Science and Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, Pernambuco, Brazil. pp:83-89.
- Pérez, M. B., Albarracín, M., Moratinos, H. & Zapata, F. 2012. Rendimiento y calidad de fruto en cuatro cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo condiciones protegidas. *Revista Facultad Agronomía*, 29, 395-412.
- Pires, R. C. M., Furlani, P. R., Ribeiro, R. V., Junior, D. B., Sakai, E., Lourenção, A. L. & Neto, A. T. 2011. Irrigation frequency and substrate volume effects in the growth and yield of tomato plants under greenhouse conditions. *Scientia Agricola*, 68(4), 400-405.
- Pratta, G., Cánepa, L.; Zorzoli, R. y Picardi, L. 2003. Efecto del germoplasma silvestre sobre caracteres de interés agronómico en híbridos intra e interespecíficos del género *Lycopersicon*. *Revista de Investigación de la Facultad de Ciencias Agrarias*, (3), 13-21.
- Raffo, A; Leonardi, C; Flogiano, V; Ambrosino, P; Salucci, M; Gennaro, L; Bugianesi, R; Giuffrida, F; Quaglia, G. 2002. Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 6550–6556.
- Sandoval V., M. 2005. Densidad de plantas. Un dilema técnico en la producción de tomate rojo en hidroponía e invernaderos. Productores de hortalizas. Especial de tomate. Número especial. pp.14-17.
- Shirahige, F. H., Melo, P. C. T., Jacomino, A. P., Melo, A. M. T., Purqueiro, L. F. V. & Roquejani, M. S. 2009. Yield and qualitative characterization of fresh market tomato hybrids of Italian and Santa Cruz types. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 821, 81-88.
- Statistical Analysis System, SAS 2004 versión 9. Copyright © 2002 by SAS Intitute Inc., Cary, NC, USA. All rights reserved.
- Tigchelaar, E. 1986. Tomato Breeding. Basset, M.J. (ed.). En: Breeding Vegetable Crops. M. J. Bassett, ed. AVI Publishing Company. Inc., Westport, Conn, pp 135 -171.

Vallejo, F. A. 1999. Mejoramiento genético y producción del tomate en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Ed. Feriva. Palmira. 75 p.

4. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE JITOMATES SILVESTRES (*Solanum sp.*) DEL SUR DE MÉXICO

4.1. RESUMEN Y ABSTRACT

4.1.1. RESUMEN

El grupo de genotipos que estructuran a *Solanum* sect. *Lycopersicon*, es de gran importancia en México y el mundo por la extensión de su cultivo, demanda y forma de consumo, en este grupo se encuentra el jitomate domesticado y sus parientes silvestres. Las variedades disponibles de jitomate cultivado se han generado a partir de una base genética estrecha y son afectadas por numerosos factores bióticos y abióticos que limitan su producción. Aunado a esto, existe el problema de que las especies silvestres están en riesgo creciente de desaparecer, a causa de la sobreexplotación y a la pérdida de su hábitat, por lo que el estudio y conservación de las mismas es de vital importancia. En respuesta a lo anterior, el propósito del presente estudio fue determinar la variabilidad genética mediante marcadores moleculares ISSR en 145 accesiones de jitomate silvestres provenientes de los estados de Guerrero, Michoacán, Puebla y Oaxaca. El análisis estadístico de los datos obtenidos de los marcadores ISSR permitió la clasificación de las accesiones de *Solanum* en seis grupos. Los iniciadores ISSR A4, P2, 7956, A7, P3, A8 y 7951 fueron efectivos para detectar polimorfismos genéticos entre los genotipos. Se encontró menos diferencias entre las accesiones de jitomate rojo que entre las de jitomates anaranjados, azules y amarillos. Las colecciones con frutos de color rojo estuvieron más relacionadas genéticamente con la especie *S. pimpinellifolium* de frutos rojos, que con las accesiones de la especie *S. cheesmanii* que produce frutos de color amarillo.

4.1.1.1. Palabras clave: marcadores ISSR, variabilidad genética, accesiones.

4.1.2. ABSTRACT

The group of plants that are part of *Solanum* sect. *Lycopersicon*, is of great importance in Mexico and the world for the extension of its cultivation, demand and form of consumption, in this group is the domesticated tomato and its wild relatives. The cultivated tomato has been generated from a narrow genetic base and is affected by numerous biotic and abiotic factors that limit its production. Added to this, there is the problem that wild species are at increasing risk of disappearing, due to overexploitation and the loss of their habitat, so the study and conservation of them is of vital importance. In response to the above, the purpose of the present study was to determine the genetic variability using molecular ISSR markers in 145 accessions of wild tomato from the states of Guerrero, Michoacan, Puebla and Oaxaca. The statistical analysis of data based on ISSR markers grouped the *Solanum* accessions in six groups. The ISSR A4, P2, 7956, A7, P3, A8 and 7951 primers were effective to detect genetic polymorphisms between the accessions. In addition, it was documented that there were fewer differences between red tomato accessions than those of orange, blue and yellow tomatoes. The accessions whose fruits are red were more genetically related to the species *S. pimpinellifolium* of red fruits, than with the accessions of the species *S. cheesmanii* that produces yellow fruits.

4.1.2.1. Keywords: ISSR markers, genetic variability, accessions.

4.2. INTRODUCCIÓN

El tomate es una planta de la familia de las Solanáceas, cuya especie es *Lycopersicon esculentum* Mill., ocupa un lugar preponderante en el desarrollo económico y social de la población a nivel mundial como nacional. Esta hortaliza constituye el 30 % de la producción hortícola, con alrededor de 4, 782, 754 hectáreas sembradas y 177.042 millones de toneladas de frutos cosechados (FAO, 2016). En México, el tomate es la segunda hortaliza más importante que se cultiva a gran escala en el norte del país tanto a cielo abierto como en condiciones protegidas (Sandoval, 2005). Sin embargo Medina (2011), menciona que en los últimos años, la superficie dedicada al cultivo de tomate ha

disminuido gradualmente en algunas zonas, debido a diversos factores; entre ellos, la incidencia creciente de plagas y enfermedades. Una manera de mitigar estos problemas es la obtención de variedades resistentes a condiciones adversas como las plagas y enfermedades mediante mejoramiento genético. Lamentablemente, los programas de mejoramiento genético del jitomate han venido manejando una base genética estrecha, lo que limita el éxito de los programas, debido a que muchas veces es difícil encontrar los genes de resistencia a enfermedades o plagas u otros factores adversos en estos grupos. Por otro lado Vallejo (1999) reporta que la mayoría de las evidencias históricas, lingüísticas, arqueológicas y etnobotánicas indican que la región de Veracruz y Puebla, en México, es el centro de domesticación del tomate. Las formas silvestres de "tomate cereza", *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*, originarias del Perú, migraron a través del Ecuador, Colombia, Panamá y América Central hasta llegar a México, donde fue domesticado por el hombre. Los jitomates silvestres se distribuyen en una gran cantidad de hábitats, desde el nivel del mar hasta las tierras altas y húmedas de los andes. Esta diversidad de hábitats ha contribuido a la gran variabilidad genética que se puede encontrar entre los jitomates silvestres (Nuez, 1999). No obstante su amplia distribución, existe poca información acerca del potencial genético existente y sobre su aprovechamiento directo como fuente de genes para el mejoramiento. Sin embargo, antes de promover su utilización en el mejoramiento, es necesario conocer la variabilidad genética que se conserva in situ, por lo que imperativo caracterizar molecularmente a las colecciones de germoplasma de jitomate silvestre del país. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue la caracterización molecular con el uso de marcadores ISSR de 145 accesiones de jitomate silvestre, para seleccionar genotipos y establecer agrupamientos con base en caracteres moleculares, a fin de incorporarlos en un programa de mejoramiento genético del jitomate cultivado.

4.3. MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1. Material vegetal

Se estudiaron 145 accesiones de jitomate silvestre recolectados en regiones templadas, tropicales y subtropicales de los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Puebla que fueron localizadas a orilla de carreteras y caminos, en lugares de vegetación cercana a las comunidades y en cultivos de maíz *Zea mays* L. (Cuadro 15). Las accesiones pertenecen a al menos tres especies: *S. cheesmanii*, *S. pimpinellifolium* y *S. esculentum* var *cerasiforme*.

Cuadro 15. Datos de pasaporte de las colecciones de jitomate silvestre.

Accesiones	Características de los frutos	Características de los lugares de colecta	Hábito de crecimiento	Coordenadas de sitios de colecta
C1,C2,C3,C4,C5,C8,C9,9A,C10,C100,C101,C115,**C121,**C122,C150,C300A,C313A,C313B,C3A,C4A,C4AA,CX,CX.ACA.,CXAL,P9,P11,C76,C200,C200A,CXAL2 C221,C222,C63,C87,C61,C64C69,C69B,C73,C73A,C75 *C79,C86,C51,P4, 213,C213A, C14A, C50A ,C199,C300,C301 C90,C91,C91A	Frutos de pequeños a grandes Redondos. Rojos, amarillos, azules y arriñonados.	Pertenecen al estado de Guerrero . Altitud entre los 0-3620 m.s.n.m. Pendientes de 0-60 %. Tipos de suelo: regosoles, cambisoles y arenosoles. Asociación con vegetación o cultivo: selva baja caducifolia, encino, encino –pino, mesófilo de montaña.	Dominio de crecimiento indeterminado	18°41'49.69"N 101°55'10.42"O y 16°16'01.53"N 98°32'27.02"O
C83,C84,C98,C299,*C381,*P28,P8,C230,C231,P15,C11,C12,C14,C15,C17,C18,C19,C20,C24,C38,C44,C44A,C53,C57,C62,C65,C65B,C68	Frutos de pequeños a medianos. De colores rojo, rojos pálidos, rosas y amarillos. Predominio de formas redondas y alargadas.	Pertenecen al estado de Puebla . La altitud oscila en 1199-2267 m.s.n.m. Pendientes de 0-40 %. Tipos de suelo: leptosoles, cambisoles y regosoles. Asociación con vegetación pino.	Dominio de crecimiento indeterminado	19°18'03.59"N 98°35'03.53"O y 18°26'53.92"N 97°32'55.82"O
C81,C188,CPTC,**P2,P7,C217,C66,*C67,P32,C70,C71C72,C77,***C78,C82,C85,C88,C97,C97B,C99,C160,C160B,C176,C180,C183,C190,C193,C194,C216,C253B,**C2X,C53B,C5A	Fruto pequeños. Rojos, amarillos y anaranjados. Crecimiento indeterminado a determinado.	Pertenecen al estado de Michoacán . La altitud oscila en 0-2166 m.s.n.m. Pendientes de 0-40 %. Tipos de suelo: vertisoles, regosoles, cambisoles y livisoles. Asociación con vegetación selva baja caducifolia, encino, encino –pino.	Dominio de crecimiento indeterminado	19°58'46.77"N 102°09'38.45"O y 17°56'19.89"N 102°11'22.72"O
C381,P3,C214,C216A,C75B,C288,C231B,P1,P5,P6,P10,P11,P12,P13,P14,P16,P17,P18,P19,P20,P21,P22P29,P23,P30,P31,P33,P34	Frutos pequeños. Redondos y arriñonados. Rojos, rojos pálidos y amarillos.	Pertenecen al estado de Oaxaca . La altitud oscila en 0-2165 m.s.n.m. Pendientes de 0-50%. Tipos de suelo: leptosoles, regosoles, cambisoles y arenosoles. Asociación con vegetación o cultivo: selva baja caducifolia, encino, encino –pino.	Dominio de crecimiento indeterminado	17°48'42.93"N 98°22'12.94"O y 16°10'01.78"N 94°05'31.31"O

Accesiones pertenecientes a la especie: **S. cheesmanii*, ** *S. pimpinellifolium*, ****S. esculentum* var *cerasiforme* (Dun) A. Gray

4.3.2. Lugar de desarrollo del experimento

El experimento se estableció en instalaciones de la Universidad Autónoma Chapingo bajo condiciones de invernadero rústico sin calefacción y con cubierta de plástico, donde las plantas fueron manejadas bajo un sistema de fertirrigación. La Universidad se localiza en el Estado de México, entre las coordenadas 19° 29'12.57" LN, 98° 53'49.94" LO, a 2252 msnm. La zona presenta un clima templado sub-húmedo y la temperatura media oscila entre 22 y 28 °C. El clima se clasifica como C Wo w b (y) g (García, 1988).

4.3.3. Recolección de accesiones

Los criterios de selección y recolección de las accesiones fueron: a) que los especímenes provinieran de plantas y sitios diferentes, además de encontrarse productivas y sanas, independientemente de que estuvieran asociadas con otras especies de interés agronómico o a la vegetación natural en el momento de la colecta. Esto, con la finalidad de obtener semillas viables para su posterior propagación en invernadero; b) el número de plantas a las que se les tomó una muestra mínima de 10 frutos fue de 3 a 15, por accesión, y esto dependió del número de ejemplares encontrados en los sitios de muestreo; c) simultáneamente se tomaron datos de las variables correspondientes a la ubicación geográfica con la ayuda de un GPS Modelo 2000, como pendiente, altitud, asociación con tipo de vegetación o especies de interés agronómico, color del suelo e índice de pedregosidad en el lugar de la muestra, dicha información se registró en los datos de pasaporte. Para verificar el estado de madurez de los frutos se observó la coloración de los mismos y se removió una muesca de la superficie externa del fruto con el propósito de observar la coloración de la semilla, considerando una coloración amarilla u oscura de la episperma. Las semillas cosechadas se etiquetaron y se envolvieron en bolsas de papel para trasladarse a las instalaciones donde se desarrolló el experimento. En la Figura 7 se presenta una muestra de la variabilidad encontrada en lo referente a coloración de los frutos.



Figura 7. Frutos maduros de jitomates silvestres recolectados en los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Puebla.

4.3.4. Establecimiento del ensayo

El ensayo inició con el establecimiento del semillero, para lo que se emplearon las semillas de los frutos colectados, mismas que se sembraron en charolas de germinación, utilizando como sustrato 'cosmo peat'. Se sembró una semilla por compartimiento a una profundidad no mayor de 4 mm. La germinación comenzó 5 días después de la siembra para la mayoría de las colectas. Las plántulas permanecieron en las charolas por un periodo de 30 días hasta su transplante en bolsas de plástico negras de 30 x 30 cm conteniendo tezontle como sustrato; asignando una planta por bolsa. En el invernadero las plantas se establecieron bajo un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones.

4.3.5. Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó siguiendo el Protocolo CTAB (hexadecil bromuro de trimetil amonio) de Doyle and Doyle (1990) utilizado en los laboratorios de Biología Molecular bajo el siguiente procedimiento. Para obtener patrones ISSR se hizo una mezcla compuesta de ADN de 10 individuos a fin de establecer relaciones genéticas entre las accesiones. El ADN se cuantificó con

el espectrofotómetro Genesys™10 uv (Thermo Scientific, U.S.A). También, se emplearon 10 iniciadores ISSR (Cuadro 16).

Las Reacciones en Cadena de la ADN Polimerasa (PCR's) se llevaron a cabo en un termociclador Techne TC-512 (Bibby Scientific, U.S.A.). Las condiciones de reacción para los marcadores ISSR fueron las siguientes: un ciclo de desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 min; 30 ciclos: a) 94 °C durante un minuto, 50 °C un minuto, 72 °C dos minutos y un ciclo de extensión final a 72 °C durante 10 min. Los fragmentos amplificados con iniciadores ISSR se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.2 % a 120 V durante 1 hora. Los geles se corrieron con el amortiguador Tris-Acetato-EDTA (TAE 0.5 X) (Tris-Base, ácido acético y EDTA 0.5 M, pH 8.0). Posteriormente, los geles se tiñeron en una solución de bromuro de etidio a una concentración de 1 mg L⁻¹ (p/v). Los patrones de bandas obtenidos se fotodocumentaron usando un transiluminador de luz UV y un sistema de documentación Kodak EDAS 290.

4.3.6. Análisis estadístico de marcadores moleculares

Para el análisis de ISSR se elaboró una matriz básica de datos binarios, de presencia/ausencia (1,0). Para la evaluación de las bandas se utilizaron dos métodos con la finalidad de corroborar la certeza de los resultados: uno se basó en la observación a simple vista y manualmente utilizando una regla transparente; y el otro utilizó un sistema computarizado AUTO CAD, 2004 versión 9 Copyright © 2002 by SAS Intitute Inc., Cary, NC, USA que permite la visualización, así como el establecimiento de reglas que corroboran el método anterior. La matriz de datos se llevó a una hoja de cálculo (EXCEL) para su posterior utilización en el programa NTSYS versión 2.2 (Numerical Taxonomic Analysis System), calculando similitudes genéticas entre todas las muestras. Con este procedimiento se obtuvo una matriz de similitud aplicando el coeficiente de Jaccard. El dendrograma y los gráficos en dos y tres dimensiones se elaboraron según el índice de similitud de Jaccard, tomando a cada accesión como una unidad taxonómica operacional (OTU).

4.4. RESULTADOS

4.4.1 Análisis de iniciadores y construcción del dendrograma

Durante la caracterización molecular se evaluaron 14 iniciadores, de los cuales se seleccionaron diez por su buena resolución y diferenciación en los patrones de bandeo (Cuadro 16). En total se obtuvieron 101 bandas y el número de bandas polimórficas varió de 5 a 14. Hubo iniciadores como A4 que amplificaron solo 5 bandas, mientras que otros como P2 sintetizaron hasta 14 fragmentos. El porcentaje de polimorfismo detectado varió de 60 a 100 %, lo que sugiere que existe variabilidad genética en las colectas de jitomate.

Cuadro 16. Iniciadores utilizados para amplificar los patrones de bandas ISSR de 145 colectas de jitomate silvestre.

Iniciador	Secuencia 5' – 3'	Núm. total de bandas	Núm. de bandas polimórficas	% de polimorfismo
P3	AGAGAGAGAGAGAGAGTG	9	7	77.77
A8	AGAGAGAGAGAGAGAGT	8	8	100.00
P2	CTGAGAGAGAGAGAGAGAG	14	10	71.42
7960	ACACACACACACAC	13	9	69.23
7946	GAGAGAGAGAGAGAA	11	8	72.72
7951	GACACACACACACACA	10	6	60.00
7953	GGAGAGGAGAGGAGA	11	9	81.81
A7	CACACACACACACAAC	10	8	80.00
7956	AGAGACAGAGAGAGAGYC	10	8	80.00
A4	CACACACACACACAAG	5	3	60.00
Total de bandas		101		

En la Figura 8 se muestra un ejemplo de los patrones de bandas amplificados en las colecciones de jitomate silvestre utilizando el iniciador P3. Se puede observar la presencia de polimorfismo entre las accesiones evaluadas.

Utilizando el programa NTSYS versión 2.2 (Numerical Taxonomic Analysis System) y el coeficiente DIST se obtuvo un árbol robusto luego de 1000 remuestreos (Figura 9). Se formaron seis grandes grupos. El grupo I, que se considera el grupo principal, incluyó a colecciones cuyas características fueron producir frutos de color rojo, anaranjados y azules. A este grupo lo contituyeron 93 accesiones y se subdividió en los subgrupos GIA y GIB. El subgrupo GIA estuvo compuesto por las accesiones C98 y C97B, en el subgrupo GIB los representantes mas importantes fueron: C200, C87, C81, C85, C86, P9, P11, C121, C10, CXAL, C301, C230, C231, C5, C75 y P32, por mencionar algunos.

El grupo II se integró con 6 accesiones : C222, P4, P5, P2, P7 y P8. Estas mostraron una relación genética muy estrecha y sus características fenotípicas fueron : frutos rojos o anaranjados, con hábito de crecimiento indeterminado o determinado, de formas redondas, tipo uva o alargadas. El grupo III se formó con las accesiones P13 y P16, cuyas características fenotípicas son producir frutos rojos, de tamaño mediano y de hábito de crecimiento indeterminado. Por otro lado, el grupo IV fue integrado por las accesiones P3, P29, P34, P6 y P31. Este grupo mostró frutos rojos, tipo bola, de tamaño mediano y de crecimiento indeterminado a determinado. El grupo V incluyó a siete accesiones con frutos rojos, tipo bola o alargados y de tamaños mediano a tipo cherry. Finalmente, el grupo VI lo conformaron 32 accesiones y éstas se subdividieron en dos subgrupos de 6 y 26, correspondiendo a los subgrupos GVIA y GVIB, respectivamente. El subgrupo GVIA lo integraron las accesiones C76, C4A, C61, C77, C190 y C99. Las características del grupo fueron : tomates amarillos o rojos, tipo bola, de porte grande a cherry, crecimiento indeterminado o determinado. Finalmente, en el subgrupo GVIB los representantes mas importantes fueron : C67, C79, C199, C4AA, C381, C91, P1, P5, P19, C14A, P6, y C100. Las características fenotípicas de estas accesiones fueron: frutos amarillos o rojos, tipo bola o alargados, en su mayoría de tipo cherry. Este grupo fue el genéticamente más alejado.

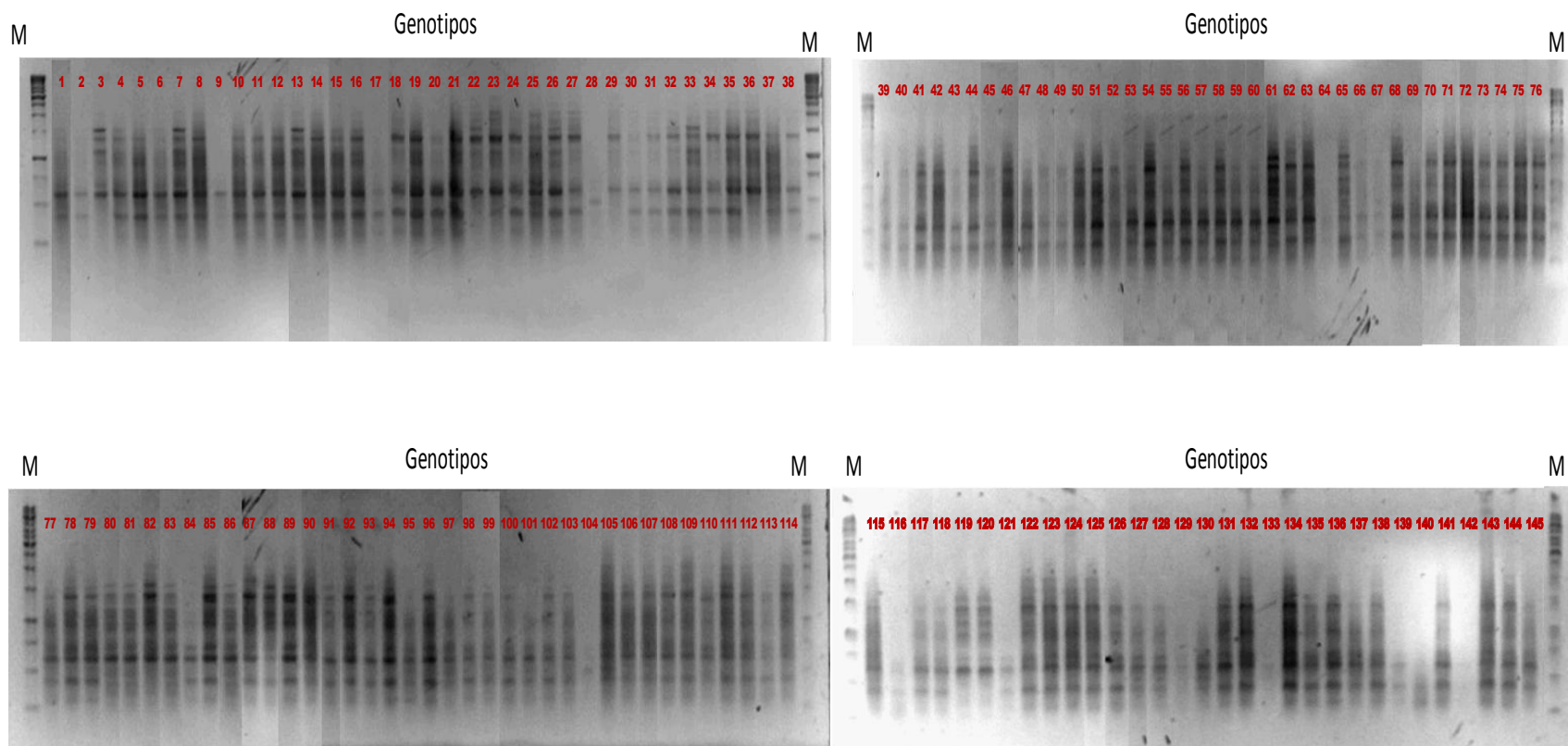


Figura 8. Patrones de bandas ISSR obtenidos utilizando el iniciador P3 en las 145 colectas de jitomate silvestre (*Solanum sp.*).

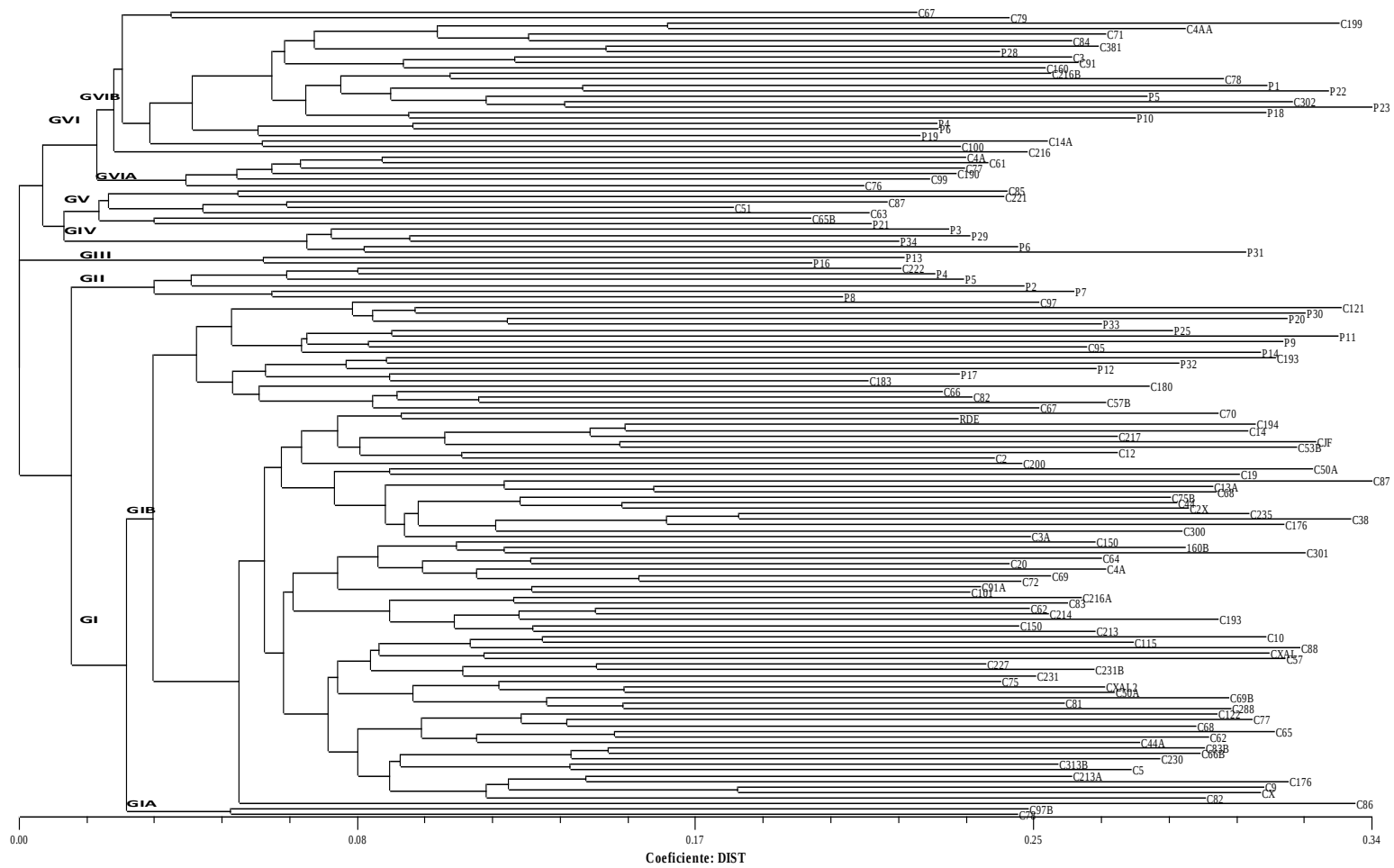


Figura 9. Dendrograma construido con datos de marcadores ISSR en 145 colectas de jitomate silvestre (*Solanum* sp.), luego de 1000 remuestreos.

4.4.2. Análisis de correspondencia

Con la información obtenida de los marcadores ISSR se realizó un análisis de correspondencia para determinar las relaciones genéticas entre las 145 colectas de jitomate silvestre y ordenar a los genotipos en grupos según sus similitudes en los patrones de bandas obtenidos con los diferentes iniciadores ISSR. En el Cuadro 17 se presentan las dimensiones, el porcentaje de variación explicada por cada dimensión y el porcentaje de variación explicada acumulada. Las dos primeras dimensiones, explicaron el 42.83 %, de la variación molecular total observada entre los jitomates silvestres evaluados.

Cuadro 17. Análisis de correspondencia, dimensión (valor singular), inercia principal y porcentaje de variación explicada y acumulada en la formación de los grupos de accesiones de jitomate silvestre usando los patrones de bandeo ISSR.

Valor singular	Inercia principal	Chi - cuadrado (%)	Porcentaje (%)	Porcentaje acumulado (%)
0.532	0.283	714.780	29.910	29.910
0.500	0.250	633.000	12.920	42.830
0.480	0.230	581.920	12.610	55.440
0.474	0.225	568.350	11.630	67.080
0.455	0.207	524.190	10.150	77.230
0.425	0.181	457.370	9.240	86.470
0.406	0.165	416.250	7.540	94.010
0.367	0.134	339.820	4.990	99.000
0.327	0.107	269.940	1.000	100.000
Total	1.782	4505.630	100	

GI= 6444

En el Cuadro 18 se indica que los iniciadores que más aportaron al ordenamiento y clasificación de las colectas en las dos primeras dimensiones fueron: A4, P2, 7956, A7, P3, A8 y 7951.

En la Figura 10 se muestra la representación gráfica de la dispersión de las accesiones en dos dimensiones, formándose seis grupos. El grupo I lo conforma la accesión 2X y se caracteriza por ser un tomate tipo cherry, redondo y de color rojo.

Cuadro 18. Contribución de los Iniciadores al ordenamiento de las 145 colectas de jitomate silvestre.

Iniciador	DIM 1	DIM 2
P3	0.395	-0.554
A8	-0.089	-0.554
P2	0.762	1.537
7960	0.113	0.285
7946	0.334	0.443
7951	-0.078	-0.602
7953	0.072	0.138
A7	0.568	-0.458
7956	-0.722	0.054
A4	-1.145	0.210

El grupo II se considera el principal e incluye jitomates con predominio de color rojo, o anaranjado o amarillo pálido, redondos y de crecimiento indeterminado. Los representantes más importantes son: C183, P32, CXAL, C82, C200, C213, C17, P12, C57B, C301, C38, C5 y C150. El grupo III lo conformaron las accesiones P9 y P11, de color azul, de forma redonda, tamaño medio y de crecimiento indeterminado. De acuerdo con el gráfico, estas accesiones se encuentran muy estrechamente emparentadas y ligeramente separadas del grupo principal que corresponde a los tomates rojos. El grupo IV lo integraron las accesiones C193, P2, P20, P14, C97B, C97, C95 y C78. Estas presentaron frutos rojos o anaranjados, de tipo bola o alargados. Por otro lado, el V grupo solo incluyó a la accesión C121, de frutos de color rojo, pequeños y crecimiento indeterminado. Finalmente, el grupo VI fue el segundo más importante según la representación gráfica y sus representantes más sobresalientes fueron: C199, C71, P22, C4AA, P22, C85, C221, P7, P30, C51, C381, P8, C222, P7, P22 y P1. En su mayoría estos fueron jitomates pequeños de color rojo, amarillos o anaranjados, por lo que se infiere que se encuentran menos emparentados con respecto a los demás grupos. Si bien es cierto que el número de grupos formados es semejante al obtenido en el dendrograma de la Figura 9, los agrupamientos difieren en las accesiones que los conforman y en el número de ellas, coincidiendo solo parcialmente en los resultados.

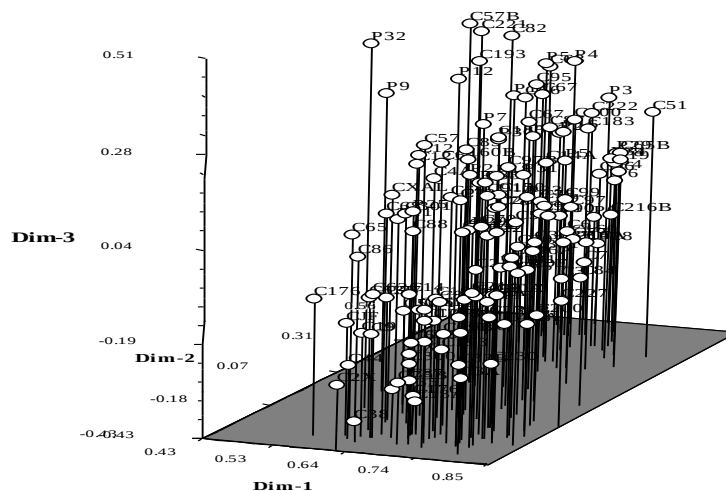


Figura 11. Ordenamiento de las colectas en 3 dimensiones, utilizando datos de marcadores ISSR en un análisis de correspondencia, con el programa NTSYS.

4.5. DISCUSIÓN

Los estudios con marcadores moleculares han sido muy útiles para establecer diferencias genéticas en algunas especies, especialmente en aquellas en las que la base de datos del ADN es bien conocida. En particular, en algunas especies del género *Solanum*, principalmente por la extensión de su cultivo y su alto valor económico. En esta investigación se caracterizó y diferenciaron las accesiones de jitomate silvestre en base a iniciadores ISSR (Cuadro 16), a fin de seleccionar genotipos con características de interés agronómico y tomar decisiones correctas al definir variables que contribuyan a su diferenciación. Es por ello, que fue fundamental someter las variables a pruebas estadísticas rigurosas. Los resultados del presente trabajo permiten constatar que existe variabilidad genética entre las colecciones de jitomates silvestres evaluadas en lo referente a los patrones de bandas amplificadas con los diferentes iniciadores, mismos que permiten diferenciarlas.

Los marcadores moleculares ISSR se han utilizado con éxito en la caracterización de accesiones en algunos bancos de germoplasma (Kocheiva *et al.*, 2002b; Tikunov *et al.*, 2003; Terzopoulos & Bebeli, 2008) especialmente en la evaluación de las diferencias entre especies o variedades que pertenecen al

mismo género. En el presente estudio los marcadores ISSR también fueron útiles en la caracterización de las 145 accesiones de *Solanum sp.*, amplificando un número de *loci* relativamente grande, que varió de 5 - 14 bandas en todos los genotipos. Sin embargo, el nivel de polimorfismo detectado con algunos iniciadores fue bajo (60 %) (Cuadro 16) en comparación con los resultados obtenidos en ocho cultivares de berenjena (*Solanum melongena*) y 12 accesiones en ocho especies de *Solanum*: *S. melongena*; *S. aethiopicum* y *S. anguivi*; *S. incanum*; *S. violaceum* y *S. kurzii*; *S. macrocarpon*; *S. virginianum* y *S. torvum*. Donde se obtuvo un total de 552 bandas amplificadas polimórficas de 34 de los 100 cebadores analizados, y el porcentaje de polimorfismo fue de 99.1%. (Isshiki *et al.*, 2008). Por otra parte, el grado de divergencia genética detectado entre las accesiones silvestres de *Solanum sp.*, utilizando los marcadores ISSR puede considerarse alto, respecto al nivel de polimorfismo detectado entre las accesiones de otras especies del mismo género (Kochieva *et al.*, 2002b; Terzopoulos y Bebeli, 2008). La variación detectada en nuestro estudio fue suficiente para distinguir todas las accesiones. En esta investigación se detectó alta variabilidad genética entre las accesiones de jitomate silvestre, posiblemente debido a que las colectas incluyen a genotipos pertenecientes a diferentes especies como *S. cheesmanii*, *S. pimpinellifolium* y *S. esculentum* var *cerasiforme*, como se indica en el Cuadro 15. Sin embargo, entre las accesiones que pertenecen a la misma especie se observó un nivel de polimorfismo bajo, lo que coincide con los resultados obtenidos por Park *et al.* (2004), quienes evaluaron la diversidad genética de 74 cultivares de *Solanum lycopersicon*, con marcadores AFLP. Resultados similares reportaron Kochieva *et al.* (2002a) al evaluar el polimorfismo genético del género *Solanum* utilizando marcadores RAPD, donde el polimorfismo inter-específico de las accesiones fue del 100 % y el intra-específico de 60 %.

Por su parte Marín *et al.* (2006) documentaron la variación genética en 55 colecciones de tomate nativo (*Solanum lycopersicum* L.) de nueve estados de México. La caracterización molecular se realizó utilizando 16 iniciadores de marcadores ISSR, que generaron 118 productos amplificados, de los cuales 81

permitieron la diferenciación de las colecciones con un 68.7 % de polimorfismo, siendo este también bajo.

En términos generales la variabilidad genética entre las accesiones fue alta debido a que hubo muchas diferencias genéticas entre ellas, lo que quedó demostrado en la gran cantidad de grupos formados (Figuras 9 y 10).

Nuestros resultados indican que hubo menos diferencias entre las accesiones de jitomate rojo que entre las de jitomates amarillos, anaranjados y azules. También, se encontró que las accesiones cuyos frutos son de color rojo, están relacionadas genéticamente con tomates rojos de la especie *S. pimpinellifolium* y los rojos de la especie *S. esculentum* var *cerasiforme*, discrepando con los de la especie *S. cheesmanii* que producen frutos color amarillo y que gráficamente presentaron mayor distancia genética.

Finalmente, los resultados obtenidos en la presente investigación sugieren que las accesiones de jitomate silvestre presentan divergencia genética importante, que debe ser conservada en un banco de germoplasma y que sirva como fuente de variabilidad en los programas de mejoramiento genético. Esto se contradice con lo reportado por (Tikunov *et al.*, 2003; Kocheiva *et al.*, 2002b) quienes encontraron pocas diferencias genéticas entre las especies de *Solanum*.

4.6. CONCLUSIONES

Los iniciadores ISSR A4, P2, 7956, A7, P3, A8 y 7951 fueron efectivos para detectar polimorfismos genéticos entre las accesiones de jitomate silvestre, clasificándolas en seis grupos. Se encontró menos diferencias entre las accesiones de jitomate rojo, que entre las de jitomates anaranjados, azules y amarillos. Las accesiones cuyos frutos son de color rojo estuvieron más emparentadas genéticamente con las especies *S. pimpinellifolium* y *S. esculentum* var *cerasiforme* de frutos rojos, que con las accesiones de la especie *S. cheesmanii* que produce frutos de color amarillo.

4.7. LITERATURA CITADA

- Doyle, J.J.; Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, v.12, p.13-15.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2016. FAOSTAT Producción agrícola [online]. Disponible en: www.fao.org/faostat/es/
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4ª. ed. UNAM. México. 252p.
- Isshiki S., N. Iwata and M.M.R. Khan (2008) ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. Scientia Horticulturae 117(3):186-190.
- Kochieva E. Z., N. N. Ryzhova, I. A. Khrapalova and V. A. Pukhalski (2002a) Using RAPD for estimating genetic polymorphism and phylogenetic relationships among species of the genus *Lycopersicon* (Tourn.) Mill. Genetika 38(9):1298-1306.
- Kochieva E. Z., N. N. Ryzhova, I. A. Khrapalova and V. A. Pukhalski (2002b) 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.
- Marín M. I. M., J.E. Rodríguez, J. Sahagún, I.L. Hernández y G.A. Velasco. 2016. Variación morfológica y molecular de 55 colectas de tomate nativo de México. Revista Chapingo Serie Horticultura 22(2):117-131. doi: 10.5154/r.rchsh.2016.03.008
- Medina R., M. 2011. "Inducción de Resistencia a *Fusarium oxysporum* y Estimulación del Desarrollo Vegetal en Jitomate (*Solanum lycopersicon*) Empleando *Methylobacterium spp.*" Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIRIPN - MICHOACÁN. Jiquilpan, Michoacán, México. 69 pp.
- Nuez F. (1999) El cultivo del tomate. 2da ed. Ediciones Mundi-Prensa Libros. Madrid. España. pp: 43-87.

- Park Y.H., M.A. West and D.A. Clair. 2004. Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Genome* 47(3):510-518.
- Statistical Analysis System, SAS (2004) Versión 9. Copyright © 2002 by SAS Intitute Inc., Cary, NC, USA.
- Sandoval V., M. 2005. Densidad de plantas. Un dilema técnico en la producción de tomate rojo en hidroponía e invernaderos. *Productores de hortalizas. Especial de tomate. Número especial.* pp.14-17.
- Terzopoulos P.J. and P.J. Bebeli (2008) DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae* 116(4):354-361.
- Tikunov Y.M., L.I. Khrustaleva and G. Karlov (2003) Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. *Euphytica* 131 (1):71-81.
- Vallejo, F. A. 1999. Mejoramiento genético y producción del tomate en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Ed. Feriva. Palmira. 75 p.

5. DISCUSIÓN GENERAL

La caracterización, conservación y uso del germoplasma silvestre de jitomate se inició en Estados Unidos desde 1930 (Rick, 1986), pero poco se ha hecho en México al respecto. Antes de promover su utilización en el mejoramiento, es necesario conocer la variabilidad genética que se conserva *in situ*. Para ello, la comunidad científica puntualiza la necesidad de caracterizar morfológica y molecularmente a las colecciones de germoplasma de jitomate, debido a la importancia de este tipo de investigaciones en los programas de mejoramiento genético. A través de este estudio, se exploró la diversidad genética de 145 accesiones de jitomate silvestre, con el propósito de seleccionar genotipos con base en caracteres de interés agronómico y molecular, que sean útiles en los programas de mejoramiento genético del jitomate cultivado. Al respecto, durante la caracterización morfológica las variables evaluadas se dividieron en cuantitativas y cualitativas. Se sometieron a pruebas estadísticas rigurosas y los resultados del presente trabajo, indicaron que las colecciones de jitomates silvestres, presentan variabilidad para los diferentes caracteres evaluados, mismos que permiten diferenciarlas.

En lo referente a las variables longitud de fruto (X9) y ancho de fruto (X10) las 145 accesiones presentaron valores mínimos y máximos de (7.61 y 93.50) y (5.90 y 140.0) milímetros, respectivamente. Los valores mínimos correspondieron a jitomates silvestres tipo 'cherry' y los máximos a los tipos 'bola' y 'saladete'. Al respecto, Nuez (1999) describe que los tomates tipo 'cherry' se caracterizan por producir frutos de tamaño muy pequeño, de 1.0 a 3.0 cm de diámetro. El análisis de los materiales realizado en el presente trabajo, coincide parcialmente con lo reportado por este autor, aunque la mayoría de las accesiones tipo 'cherry' mostraron diámetros superiores, manifestando algunas diferencias. Según Tigchelaar (1986), las variables diámetro de fruto y ancho de fruto, son indicadores del tamaño y forma de los mismos.

En lo referente a los valores de sólidos solubles la variable (X6) oscilo en un rango de 2.70 a 13.4 °Brix. Estos resultados sugieren que existen genotipos silvestres que pudieran utilizarse en programas de mejoramiento genético, para incrementar el contenido de sólidos solubles en variedades comerciales, que normalmente lo tienen bajo. Trabajos realizados en Costa Rica indican que la mayoría de las variedades comerciales de tomate presenta valores entre 4.0 y 5.0 °Brix (Pérez *et al.*, 2012; Shirahige *et al.*, 2009). Por otro lado, en Brasil se realizó también un ensayo sobre la misma variable y esta osciló entre 5.93 y 7.49 °Brix, dependiendo de la frecuencia de riego, siendo mayor cuando la planta solo recibió un riego por día (Pires *et al.*, 2011). Además, Castellanos (2009) señala que si los °Brix en jitomate presentan valores superiores a los 4.5, estos se consideran de calidad aceptable y corresponden a frutos de buen sabor, mientras que si estos son menores a 4.0 °Brix, se relacionan con una calidad no aceptable, por lo que en las especies hortícolas como el jitomate además del rendimiento, es importante considerar parámetros de calidad durante la selección y mejoramiento de un genotipo.

El rendimiento es una característica que presenta mucha variabilidad en los genotipos evaluados, por lo que no puede ser considerado como un marcador morfológico. Sin embargo, en este trabajo se consideró con la intención de identificar a las mejores accesiones en términos de esta variable. Los valores de esta característica pueden cambiar según el genotipo, las condiciones ambientales, la presencia de plagas, enfermedades, la densidad de siembra y el manejo. Por lo que la variable peso de frutos a la primera cosecha (X4) osciló entre 6.40 y 2330.0 g por planta. Las mejores representantes de esta característica fueron las accesiones C73, C91 y C76, con pesos en gramos de 2330.0, 2145.0 y 2085.0, respectivamente.

En lo que se refiere al hábito de crecimiento, se observó que el 92.75 % de los materiales caracterizados tienen crecimiento indeterminado, mientras que el resto (7.25 %) lo tienen determinado. Florido *et al.* (2008) mencionan que en las accesiones de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* el crecimiento indeterminado es una característica típica de los jitomates silvestres, así como

también, frutos pequeños con hombro verde y aplanado, además de cicatrices pendular y estilar pequeñas.

En cuanto al color de fruto, también hubo diferencias entre las accesiones. El color de fruto rojo fue el predominante entre las accesiones y correspondió al (78.67 %), seguido del color anaranjado, amarillo, rojo pálido, rosas, rojo con negro y azul; en proporciones de 6.20, 5.51, 3.44, 3.44, 1.37 y 1.37 %, respectivamente. Al respecto Florido *et al.* (2002), reportaron que esta característica se debe principalmente a la presencia de carotenoides más que a las antocianinas. Así mismo, Pratta *et al.* (2003) encontraron que uno de los mayores atractivos para cualquier producto es su diversidad. Al respecto en el presente trabajo también se ha hecho mención que de acuerdo al dendrograma obtenido con datos de las variables de tipo cualitativas, el color de fruto indicó que el grado de relación que existe entre los jitomates rojos y azules es más cercano que el que existe, entre los jitomates rojos con amarillos y rojos con anaranjados. Por otro lado, la forma de fruto predominante fue la redonda, presentándola el 65.51 % de los genotipos. Pratta *et al.* (2003) encontraron que los frutos de los materiales silvestres *S. lycopersicum* var *cerasiforme* y *S. pimpinellifolium* tienen formas esféricas, a diferencia de los cultivares híbridos dentro de la variedad doméstica, en los que la altura del fruto fue menor que el diámetro. Sin embargo, para los materiales que se evaluaron esto no es del todo compartido, puesto que existen genotipos con formas ovaladas, arriñonadas o de un tipo diferente. El 12.42, 8.96, 6.20, 4.82, 0.68 y 0.68 % de los materiales exhibieron formas arriñonadas, elipsoides, redondeadas, cilíndricas, piliformes y achatadas, respectivamente.

Una de las principales quejas de los consumidores de tomate en todo el mundo, es que se han perdido características de calidad como sabor y aroma, pues la selección de nuevos genotipos ha privilegiado otras como rendimiento, larga vida de anaquel, apariencia externa y tolerancia a enfermedades (Causse *et al.*, 2003). Así mismo, Castellanos (2009) menciona que la calidad final del jitomate está definida por sus características nutricionales, químicas y físicas como la firmeza, por mencionar algunas. En el presente trabajo se reporta que el rango

de la vida de anaquel de los frutos de los genotipos evaluados osciló de 1 a 130 días. La variación de esta característica es muy grande. Según Castellanos (2009), los frutos maduros de tomate que tienen una firmeza igual o superior a 11 N se consideran muy firmes y como consecuencia tienen un periodo mayor de vida de anaquel. En nuestro trabajo desafortunadamente no medimos esa característica. Las accesiones que en nuestro estudio mostraron mayor vida de anaquel y fueron: C76, C50A, C19, P19 y P23.

El área foliar y el índice de área foliar son parámetros ampliamente utilizados en estudios de fisiología ecológica de cultivos (Coombs y Hall, 1982). Al respecto, en la presente investigación se realizó un análisis de correlación entre todas las variables cuantitativas evaluadas y se observó que existe correlación positiva y altamente significativa entre el área foliar y el número de frutos. Es decir que si aumenta el área foliar, aumenta el número de frutos. Además, se encontró una correlación negativa entre el área foliar y el color del fruto en (b). Esto indica que al incrementarse el valor del área foliar su contraparte se ve afectada negativamente a colores más oscuros, mejorando el color final del fruto.

Con lo referente a los estudios moleculares basados en marcadores ISSR encontramos que fueron útiles para establecer diferencias genéticas entre las accesiones de jitomate silvestre, ya que permitieron constatar que las colecciones presentan variabilidad para los diferentes iniciadores evaluados, mismos que permitieron diferenciarlas. Los marcadores ISSR permitieron separar a las 145 accesiones de *Solanum sp* en 6 grupos, amplificando un número de *loci* relativamente grande que varió de 5-14 bandas en todos los genotipos. Sin embargo, el nivel de polimorfismo detectado fue relativamente bajo puesto que para algunos iniciadores fue de 60 %, siendo un valor bajo cuando se compara con los resultados obtenidos en ocho cultivares de berenjena (*Solanum melongena*) y 12 accesiones en ocho especies de *Solanum*: *S. melongena*; *S. aethiopicum* y *S. anguivi*; *S. incanum*; *S. violaceum* y *S. kurzii*; *S. macrocarpon*; *S. virginianum* y *S. torvum*. Donde se obtuvo un total de 552 bandas amplificadas polimórficas de 34 de los 100 cebadores analizados, y el porcentaje de polimorfismo fue de 99.1 %. (Isshiki et

al., 2008). Por otra parte, el grado de divergencia genética detectado entre las accesiones de *Solanum sp.*, utilizando estos marcadores moleculares, fue considerado alto en comparación con el nivel de polimorfismo entre las accesiones de otras especies del género (Kochieva *et al.*, 2002b; Terzopoulos y Bebeli, 2008); además, la variación detectada fue suficiente para distinguir todas las accesiones.

En el presente estudio del género *Solanum* se observó fuertes diferencias a nivel fenotípico y genotípico entre algunos materiales, lo que sugiere que corresponden a especies diferentes. Entre las accesiones que pertenecen a la misma especie se observó un nivel de polimorfismo bajo, lo que coincide con los resultados obtenidos por Park *et al.* (2004), quienes evaluaron la diversidad genética de 74 cultivares de *Solanum lycopersicon*, con marcadores AFLP. Resultados similares reportaron Kochieva *et al.* (2002a) al evaluar el polimorfismo genético del género *Solanum* utilizando marcadores RAPD, donde el polimorfismo inter-específico de las accesiones fue de 100 %, mientras que el intra-específico de 60 %. Por su parte Marín *et al.* (2006) documentaron la variación genética en 55 colecciones de tomate nativo (*Solanum lycopersicum L.*) de nueve estados de México. La caracterización molecular se realizó utilizando marcadores ISSR con 16 iniciadores, que generaron 118 productos amplificados, de los cuales 81 permitieron la diferenciación de las colecciones con un 68.7 % de polimorfismo, siendo este también bajo. En nuestro trabajo encontramos que hubo menos diferencias entre las poblaciones de jitomate rojo que entre las poblaciones de jitomates amarillos, anaranjados y azules. En términos generales la variabilidad genética entre las accesiones fue muy alta y esto se demuestra por la gran cantidad de grupos formados en los dendrogramas obtenidos. Además, se observó que los jitomates rojos están más emparentados genéticamente con los azules y anaranjados, que con los jitomates amarillos.

Finalmente, las accesiones evaluadas en este trabajo presentaron divergencia genética importante, por lo que deben ser conservadas en un banco de

germoplasma, con el propósito de servir como fuente de variabilidad en programas de mejoramiento genético. Estos resultados difieren con lo reportado por Tikunov *et al.* (2003) y Kocheiva *et al.* (2002b) quienes afirman encontraron bajo polimorfismo entre especies de *Solanum lycopersicon*.

5.1. LITERATURA CITADA

- Castellanos, J. Z. 2009. Manual de producción de tomate en invernadero. Celaya, Guanajuato, México: Intagri, S. C. pp:118-156.
- Causse, M., Buret, M., Robini, K., y Verschave, P. 2003. Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. *Journal of Food Science*, 68(7), 2342-2350.
- Coombs J., Hall D.O. 1982. Whole Plant Photosynthesis and Productivity. In: Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis. Pergamon Press, Oxford.
- Florido, M.; Álvarez, M.; Lara, R., Plana, D.; Varela M.; Shagarodsky T. y Moya, C. 2002. Caracterización morfo-agronómica y bioquímica de 20 accesiones de tomate (*Lycopersicon spp*). *Revista Cultivos Tropicales*, 23(4), 61-69.
- Isshiki S., N. Iwata and M.M.R. Khan (2008) ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. *Scientia Horticulturae* 117(3):186-190.
- Kochieva, E.Z.; Ryzhova, N.N.; Khrapalova, I.A.; Pukhalskiä-, V.A. 2002a. Using RAPD for estimating genetic polymorphism in and phylogenetic relationships among species of the genus *Lycopersicon* (Tourn.) Mill. *Genetika*, 38(9), 1298-1306.
- Kochieva, E.Z.; Ryzhovaa, N.N.; Khrapalova, I.A.; Pukhalskyi, V.A. 2002b. 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.
- Marín M. I. M., J.E. Rodríguez, J. Sahagún, I.L. Hernández y G.A. Velasco. 2016. Variación morfológica y molecular de 55 colectas de tomate nativo

- de México. Revista Chapingo Serie Horticultura 22(2):117-131. doi: 10.5154/r.rchsh.2016.03.008
- Nuez, F. 1999. El cultivo del tomate. 2da ed. Ediciones Mundi-Prensa Libros., Madrid. España. pp:43-87.
- Park Y.H., M.A. West and D.A. Clair. 2004. Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Genome 47(3):510-518.
- Pérez, M. B., Albarracín, M., Moratinos, H. & Zapata, F. 2012. Rendimiento y calidad de fruto en cuatro cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo condiciones protegidas. *Revista Facultad Agronomía*, 29, 395-412.
- Pires, R. C. M., Furlani, P. R., Ribeiro, R. V., Junior, D. B., Sakai, E., Lourenção, A. L. & Neto, A. T. 2011. Irrigation frequency and substrate volume effects in the growth and yield of tomato plants under greenhouse conditions. *Scientia Agricola*, 68(4), 400-405.
- Pratta, G., Cánepa, L.;Zorzoli, R. y Picardi, L. 2003. Efecto del germoplasma silvestre sobre caracteres de interés agronómico en híbridos intra e interespecíficos del género *Lycopersicon*. *Revista de Investigación de la Facultad de Ciencias Agrarias*, (3), 13-21.
- Rick C. M. and Fobes J.F. 1975. Allozyme variation in the cultivated tomato and closely related species. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 102, 376-384.
- Shirahige, F. H., Melo, P. C. T., Jacomino, A. P., Melo, A. M. T., Purqueiro, L. F. V. & Roquejani, M. S. 2009. Yield and qualitative characterization of fresh market tomato hybrids of Italian and Santa Cruz types. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 821, 81-88.
- 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.
- Tigchelaar, E. C. 1986. Tomato Breeding. Basset, M.J. (ed.). En: Breeding Vegetable Crops. M. J. Bassett, (ed.) AVI Publishing Company. Inc., Westport.

Tikunov, Y.M.; Khrustaleva, L.I.; Karlov, G. 2003. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. *Euphytica*, 131(1), 71-81.

6. CONCLUSIONES GENERALES

En los jitomates silvestres rojos, anaranjados y amarillos evaluados, la variabilidad morfológica detectada fue alta para las variables cuantitativas área foliar, color de hoja, número de frutos, peso del fruto, color de fruto b, color de fruto (a) y (L) por lo que determinaron la formación de cuatro grupos de jitomates silvestres. Las variables cualitativas más importantes que determinaron la diferenciación de los genotipos fueron el hábito de crecimiento, el color de fruto y la forma de fruto, separándose en dos grupos. Los marcadores moleculares ISSR diferenciaron seis grupos, entre las accesiones de jitomate silvestre *Solanum* sp., revelando el polimorfismo existente entre ellas. Los iniciadores ISSR A4, P2, 7956, A7, P3, A8 y 7951 fueron los más efectivos para detectar polimorfismos genéticos. Por otro lado, se encontró menos diferencias entre las accesiones de jitomate rojo, que entre las de jitomates anaranjados, azules y amarillos. Las accesiones cuyos frutos son de color rojo estuvieron más emparentadas genéticamente con las especies *S. pimpinellifolium* y *S. esculentum* var *cerasiforme*, de frutos rojos, que con las accesiones de la especie *S. cheesmanii* que produce frutos de color amarillo. Las accesiones sobresalientes para un programa de mejoramiento genético fueron: C200 (tipo bola, color rojo y tamaño grande de 90 a 95 gramos por fruto); C101 (tipo bola, color rojo, de 5 a 7 frutos por racimo y vida de anaquel de 45 días); C230 (tipo saladette, rojo intenso, frutos de 5°brix y de un peso de 125 gramos), C231 (tipo bola, color rojo intenso, de 4 a 5 frutos por racimo un peso de 120 a 130 gramos); C76 (tipo bola, color amarillo y una vida de anaquel de 90 días y la accesión C85 (tipo uva de color rojo intenso, de 4 a 20 frutos por racimo de peso entre 5 gramos por fruto y °Brix de 8).