

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN SIMÓN
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS, FORESTALES
Y VETERINARIA
“Dr. MARTÍN CÁRDENAS”



CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE
GERMOPLASMA DE TOMATES NATIVOS (*Solanum sp.*) EN BOLIVIA

TESIS DE GRADO PARA
OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO

SILVIA SANTOS MENDEZ

COCHABAMBA – BOLIVIA

2014

HOJA DE APROBACIÓN

Jorge W. Gonzales C., Ph. D.

TRIBUNAL

Jorge A. Rojas B., Ph. D.

TRIBUNAL

Ing. Hans F. Mercado R.

TRIBUNAL

V°B° M. Sc. Juan Villarroel S.

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

AGRICOLAS Y PECUARIAS

DEDICATORIA

A mis padres Francisco y Esperanza por todo el cariño y apoyo que me brindaron, guiándome en todo el trayecto de mi vida y mi carrera gracias por todo.

A mi hermana Isabel por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

- **A la Facultad de Ciencias Agrícolas Pecuarias Forestales y Veterinaria “Martín Cárdenas” de la Universidad Mayor de San Simón por las enseñanzas adquiridas dentro de ellas hacia mi formación académica.**
- **Al Centro Nacional de Producción de Semillas de Hortalizas (INIAF-CNPSH) por brindarme sus instalaciones y poder realizar el trabajo de investigación.**
- **A mi tutor el Dr. Jorge Gonzales por apoyarme y guiarme en la investigación, a las observaciones realizadas para la conclusión de la misma.**
- **A mi asesor el Dr. Jorge Rojas por aceptar ser mi asesor, guiarme en el desarrollo de la redacción.**
- **A mi asesor el Ing. Hans Mercado por la guía y asesoramiento en el trabajo de campo, por las enseñanzas, apoyo y correcciones realizadas en la conclusión del trabajo de investigación.**
- **A la Ing. Emiliana por las enseñanzas, consejos y ayuda brindada durante el trabajo de campo.**
- **Al Ing. Jesús Dávila gracias por sus palabras de aliento y consejos, así también la ayuda en el trabajo de campo.**
- **Al Ing. Juan José por ayudarme en la parte estadística, y guiarme hacia los resultados.**
- **Un agradecimiento especial a Nelson, Elva y su familia por brindarme ese apoyo sin condiciones, cuidarnos como sus hijas, estar hasta en los momentos más difíciles muchas gracias.**
- **A mis amigas Zulma y Suci por brindarme siempre su ayuda y comprensión en los momentos difíciles.**

RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.), es la hortaliza más importante en el mundo con los países en vías de desarrollo contribuyendo de manera significativa (65%) a la producción mundial de hortalizas. Con el objetivo de determinar la variabilidad morfológica y molecular de germoplasma de tomate nativo (*Solanum* sp.) existente en los bancos de germoplasma de la FCAYP-UMSS y del CNPSH-INIAF, se realizó un ensayo experimental durante los años 2011 y 2012. Se caracterizaron morfológicamente 71 accesiones utilizando los descriptores del IPGRI. El análisis de componentes principales determinó que el 75.1% de variación lo explicaron los 3 primeros componentes. El análisis de conglomerados determinó la separación en tres grupos; el primer grupo fue conformado por 58 accesiones, presentando menor peso y número de lóculos en el fruto, el segundo grupo conformado por 11 accesiones longitud y ancho de fruto. Para evaluar molecularmente las 71 accesiones se utilizó 13 Microsatélites diferentes, donde el microsatélite m13-TOM236_P obtuvo mayor número de alelos. El análisis de conglomerados determinó la formación de 5 grupos genéticamente distintos. El análisis de coordenadas principales permitió la separación de las accesiones en 5 grupos, viéndose que algunas accesiones van separándose bastante de los demás grupos, esto ayudara a diferenciar algunas accesiones.

Palabras clave: *Solanum* sp., tomate, variabilidad morfológica, caracterización molecular.

SUMMARY

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most cultivated vegetable grown in developing countries, where it contributes significantly (65%) to the vegetables' world production. During the period of 2011 – 2012, an experiment was established to determine the morphological and molecular variability of native tomato (*Solanum* sp.) existing at the germplasm banks of the FCAYP-UMSS and CNPSH-INIAF, in Bolivia. Seventy-one germplasm accessions were morphologically characterized using IPGRI tomato descriptors. According to the principal component analysis, 75.1% of the morphological variation is explained by the 3 first components. Conglomerate analysis resulted in the differentiation of three groups; the first group was comprised by 58 accessions with low weight and low locule number; de second group was comprised by 11 accessions showing fruit length and fruit width. The molecular analysis was performed using thirteen different microsatellite primers, with the microsatellite primer m13-TOM236_P showing the highest number of alleles. Conglomerate analysis resulted in the formation of five genetically different groups. The principal coordinates analysis showed 5 different groups for the germplasm collection, seeing that some accessions are quite separated from the other groups, this will help differentiate some accessions.

Keywords: *Solanum* sp., tomato, morphological variability, molecular characterization.

ÍNDICE

Contenido	Pág
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	3
1.1.1. Objetivo General	3
1.1.2. Objetivos Específicos	3
1.2. Hipótesis.....	3
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Origen del tomate	4
2.2. Importancia económica.....	5
2.3. Valor nutritivo	6
2.4. Diversidad genética y recursos fitogenéticos	7
2.5. Diversidad de tomate	8
2.6. Conservación de los recursos fitogenéticos	8
2.7. Métodos de conservación de recursos fitogenéticos	9
2.7.1. Conservación <i>in situ</i>	9
2.7.2. Conservación <i>ex situ</i>	10
2.8. Etapas de la conservación <i>ex situ</i> de recursos fitogenéticos	11
2.9. Caracterización y evaluación	11
2.10. Caracterización morfológica.....	11
2.11. Descriptores	12
2.12. Análisis estadístico morfológico	13
2.12.1. Métodos para el análisis de datos de caracterización.	13
2.12.2. Métodos multivariados.	14
2.13. Marcadores genéticos	15
2.14. Marcadores moleculares.....	16
2.15. Marcadores microsatélites.....	17
2.16. Tipos de microsatelites.....	18
2.17. Características y ventajas de los microsatélites.....	19
2.18. Análisis estadístico molecular	20
2.18.1. Análisis de estructura poblacional.....	20

2.18.2. Análisis de conglomerados	21
2.18.3. Análisis de coordenadas principales (PCoA)	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Ubicación del ensayo.....	23
3.2. Materiales	23
3.2.1. Material vegetal	23
3.2.2. Material de campo	25
3.3. Metodología del invernadero.....	25
3.3.1. Preparación del sustrato	25
3.3.2. Siembra en almácigo	25
3.3.3. Labores culturales en almacigo	26
3.3.4. Preparación de macetas y trasplante	27
3.3.5. Labores culturales después de trasplante	27
3.3.6. Extracción de semilla	30
3.4. Caracterización morfológica de tomate por IPGRI	30
3.4.1. Color del hipocótilo	30
3.4.2. Intensidad del color del hipocótilo	31
3.4.3. Pubescencia del hipocótilo	31
3.4.4. Longitud de la hoja primaria (mm)	31
3.4.5. Ancho de la hoja primaria (mm)	31
3.4.6. Tipo de crecimiento de la planta	31
3.4.7. Tamaño de la planta	31
3.4.8. Densidad de la pubescencia del tallo.....	32
3.4.9. Longitud del entrenudo del tallo	32
3.4.10. Densidad del follaje	32
3.4.11. Número de hojas en la primera inflorescencia	32
3.4.12. Posición de la hoja	32
3.4.13. Tipo de hoja (Figura 9).....	32
3.4.14. Grado de disección de la hoja.....	33
3.4.15. Coloración antocianínica de las venas	34
3.4.16. Tipo de inflorescencia.....	34
3.4.17. Color de la corola.....	34

3.4.18. Tipo de corola.....	34
3.4.19. Longitud del pétalo (mm)	34
3.4.20. Longitud del sépalo (mm).....	34
3.4.21. Posición del estilo	35
3.4.22. Forma del estilo.....	35
3.4.23. Pubescencia del estilo	35
3.4.24. Longitud del estambre (mm)	35
3.4.25. Color exterior del fruto no maduro	35
3.4.26. Rayas verdes en el fruto (hombros).....	36
3.4.27. Intensidad del greenback (hombros verdes)	36
3.4.28. Pubescencia del fruto	36
3.4.29. Forma predominante del fruto (Figura 10).....	36
3.4.30. Tamaño del fruto.....	37
3.4.31. Homogeneidad del tamaño del fruto	37
3.4.32. Peso del fruto (g)	37
3.4.33. Longitud del fruto (mm)	38
3.4.34. Ancho del fruto (mm)	38
3.4.35. Color exterior del fruto maduro	38
3.4.36. Intensidad del color exterior	38
3.4.37. Forma secundaria del fruto	38
3.4.38. Nervadura en el extremo del cáliz.....	38
3.4.39. Facilidad para separar el fruto del pedicelo	39
3.4.40. Forma del hombro del fruto (Figura 11).....	39
3.4.41. Longitud del pedicelo (cm)	39
3.4.42. Longitud del pedicelo desde la capa de la abscisión (cm) (Figura 12).....	39
3.4.43. Presencia/ausencia de pedicelo sin unión.....	40
3.4.44. Ancho de la cicatriz del pedicelo	40
3.4.45. Tamaño de la zona corchosa alrededor de la cicatriz del pedicelo.....	40
3.4.46. Facilidad para pelar el fruto (piel)	40
3.4.47. Color de la piel del fruto maduro	40
3.4.48. Grosor de la piel del fruto (mm)	40
3.4.49. Grosor del pericarpio (mm)	41

3.4.50. Color de la carne del pericarpio (interior)	41
3.4.51. Intensidad del color de la carne	41
3.4.52. Color (intensidad) del corazón.....	41
3.4.53. Forma del corte transversal del fruto (Figura 13).....	41
3.4.54. Tamaño del corazón (cm)	42
3.4.55. Numero de lóculos	42
3.4.56. Forma de la cicatriz del pistilo (Figura 14)	42
3.4.57. Forma de terminal de la floración del fruto (Figura 15).....	42
3.4.58. Condición de la cicatriz del terminal de la floración	43
3.4.59. Firmeza del fruto (después del almacenamiento)	43
3.4.60. Forma de la semilla.....	43
3.4.61. Peso de 1000 semillas (g)	43
3.4.62. Color de la semilla	44
3.4.63. Porcentaje de germinación.....	44
3.5. Metodología de análisis estadístico	44
3.6. Caracterización molecular	46
3.6.1. Recolección de muestras.....	46
3.7. Procesamiento de datos y análisis estadístico.....	47
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
4.1. Análisis de datos morfológicos	48
4.2. Análisis de datos moleculares	55
V. CONCLUSIONES.....	59
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
VII. ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE CUADROS

CONTENIDO		Pág.
Cuadro 1.	Principales países productores de tomate (t) a nivel mundial.	5
Cuadro 2.	Valor nutricional del tomate por 1 kg de sustancia comestible de tomate tipo cherry.	6
Cuadro 3.	Ventajas de los marcadores moleculares, en relación a los marcadores morfológicos.	17
Cuadro 4.	Clasificación de microsatélites.	19
Cuadro 5.	Códigos de las 71 accesiones utilizadas en la caracterización.	24
Cuadro 6.	Cantidad de fertilizante en el fertirriego.	29
Cuadro 7.	Estadísticos simples de los caracteres cuantitativos en las 71 accesiones de tomate.	49
Cuadro 8.	Proporción explicada por los componentes principales.	51
Cuadro 9.	Variables explicadas por cada componente principal.	52

ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	Pág
Figura 1. Distribución de las especies silvestres de género <i>Lycopersicon</i> .	4
Figura 2. Composición de una región microsatélite.	18
Figura 3. Invernadero donde se realizó el trabajo de campo.	23
Figura 4. Preparación del tomate en almacigo bajo invernadero.	26
Figura 5. A. Colocación de las macetas al invernadero. B. Trasplante de las plántulas de tomate al invernadero.	27
Figura 6. A. Instalación del sistema de riego. B. Colocación de los goteros a las macetas.	28
Figura 7. A. Tutorado de las accesiones de tomate B. Planta tutorada con tres pitas	29
Figura 8. Extracción de semilla de tomate en envases.	30
Figura 9. Tipos de hojas según el IPGRI.	33
Figura 10. Formas del fruto de tomate según IPGRI.	37
Figura 11. Forma del hombro del tomate según IPGRI.	39
Figura 12. Longitud de medición desde la capa de abscisión.	39
Figura 13. Forma del hombro del tomate según IPGRI.	41
Figura 14. Formas de cicatriz según IPGRI.	42
Figura 15. Forma terminal de la floración del fruto según IPGRI.	43
Figura 16. A. Preparación de las cajas petri y las semillas para la germinación. B. Identificación de las accesiones.	44
Figura 17. A. Recolección de las muestras (hojas de tomate). B. Guardado de las muestras en una conservadora.	46
Figura 18. Variación explicada de 15 componentes principales.	50
Figura 19. Dendograma del agrupamiento de 71 accesiones de tomate de caracteres cuantitativos.	54
Figura 20. Dendograma de las 71 accesiones de tomate analizados con los 13 marcadores microsatélites.	56
Figura 21 Análisis de coordenadas principales de las 71 accesiones analizadas con los 13 microsatélites.	57

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.), es la hortaliza más importante en el mundo; constituye el 30% de la producción hortícola, con alrededor de 2.9 millones de hectáreas sembradas y 72.744.000 toneladas de frutos cosechados. Los países en vía de desarrollo contribuyen de manera significativa a la producción mundial con aproximadamente 47.283.600 toneladas, que representan el 65% de dicha producción (Vallejo *et al.*, 2004).

Al aumentar su producción también incrementan las enfermedades, ante ello se necesitan especies silvestres que sean tolerantes, sin embargo, se han ido perdiendo principalmente por el uso inadecuado que hacemos de ellas, así como por la destrucción de su hábitat (Jaramillo y Baena, 2000).

Las especies silvestres de tomate son fuentes importantes de genes para la resistencia genética a los insectos plaga. En el caso del tomate, existen numerosas especies silvestres del género *Solanum* que son consideradas como un importante recurso para generar variabilidad genética en los programas de mejoramiento (Casas *et al.*, 2003).

El valor de las colecciones de recursos fitogenéticos, reside en la utilización que de ellas se haga para producir nuevos cultivares, domesticar nuevas especies y desarrollar nuevos productos, para el beneficio de las actividades productivas. Las colecciones deben proveer a los mejoradores de variantes genéticas, genes o genotipos, que les permitan responder a los nuevos desafíos planteados por los sistemas productivos, siendo para ello imprescindible conocer las características del germoplasma conservado (Abadie y Berretta, 2001).

Los recursos fitogenéticos se pueden conservar dentro o fuera de su hábitat natural, o combinando ambas alternativas. Fuera de su hábitat natural, los recursos fitogenéticos se conservan en bancos y colecciones de germoplasma, pasando por diferentes etapas y procedimientos que requieren personal capacitado (Jaramillo y Baena, 2000).

Las actividades de caracterización y evaluación, ayudan a mejorar las estrategias de colección y conservación de germoplasma, porque permiten detectar las necesidades de variabilidad y conservación más eficientes, promover su uso y diseñar estrategias de mejoramiento de las distintas especies (Vallejo *et al.*, 2002).

La utilización eficiente de los recursos fitogenéticos depende de su adecuada caracterización. Tradicionalmente, estas caracterizaciones se han realizado utilizando largas listas de descriptores fenotípicos, principalmente de tipo morfológico o agronómico. Esto ha permitido diferenciar algunos materiales, pero a veces en forma imprecisa, debido a la interacción de estas variables con las condiciones ambientales (Wilches, 2004).

En el presente trabajo se realizó la caracterización morfológica de 71 accesiones de tomate nativo provenientes de la Facultad de Ciencias Agrícolas Pecuarías Forestales y Veterinaria (FCAPFyV) y del Centro Nacional de Producción de Semillas de Hortalizas (CNPSH), utilizando los descriptores de IPGRI con el propósito de identificar similitudes o diferencias dentro de la colección. La información que se obtenga será fundamental para la obtención de nuevas variedades. Mientras que la caracterización molecular se realizó utilizando microsatélites o SSR (Simple Sequence Repeat) con el propósito de identificar similitudes o diferencias dentro de la colección. La información que se obtenga será fundamental para la obtención de nuevas variedades.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo General

- Estudiar la diversidad genética de tomate nativo (*Solanum sp.*) utilizando descriptores morfológicos y moleculares.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Determinar la variabilidad morfológica de 71 accesiones de tomate nativo (*Solanum sp.*) existente en el banco de germoplasma de la UMSS-FCAPFyV y del INIAF-CNPSH.
- Clasificar las accesiones de acuerdo con las características similares.
- Determinar la variabilidad molecular de las 71 accesiones utilizando microsatélites
- Identificar posibles duplicados dentro la colección.

1.2. Hipótesis

Ho. Dentro la colección de tomate nativo (*Solanum sp.*) no existe variabilidad a nivel morfológico y molecular.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Origen del tomate

El origen del género *Lycopersicum* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile (Figura 1). Probablemente desde allí fue llevado a Centroamérica y México donde se domesticó y fue por siglos parte básica de la dieta. Luego, fue llevado por los conquistadores a Europa. Durante el siglo XVI se consumían en México tomates de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos y para entonces ya habían sido introducidos a España y servían como alimento en España e Italia (Escalona *et al.*, 2009).

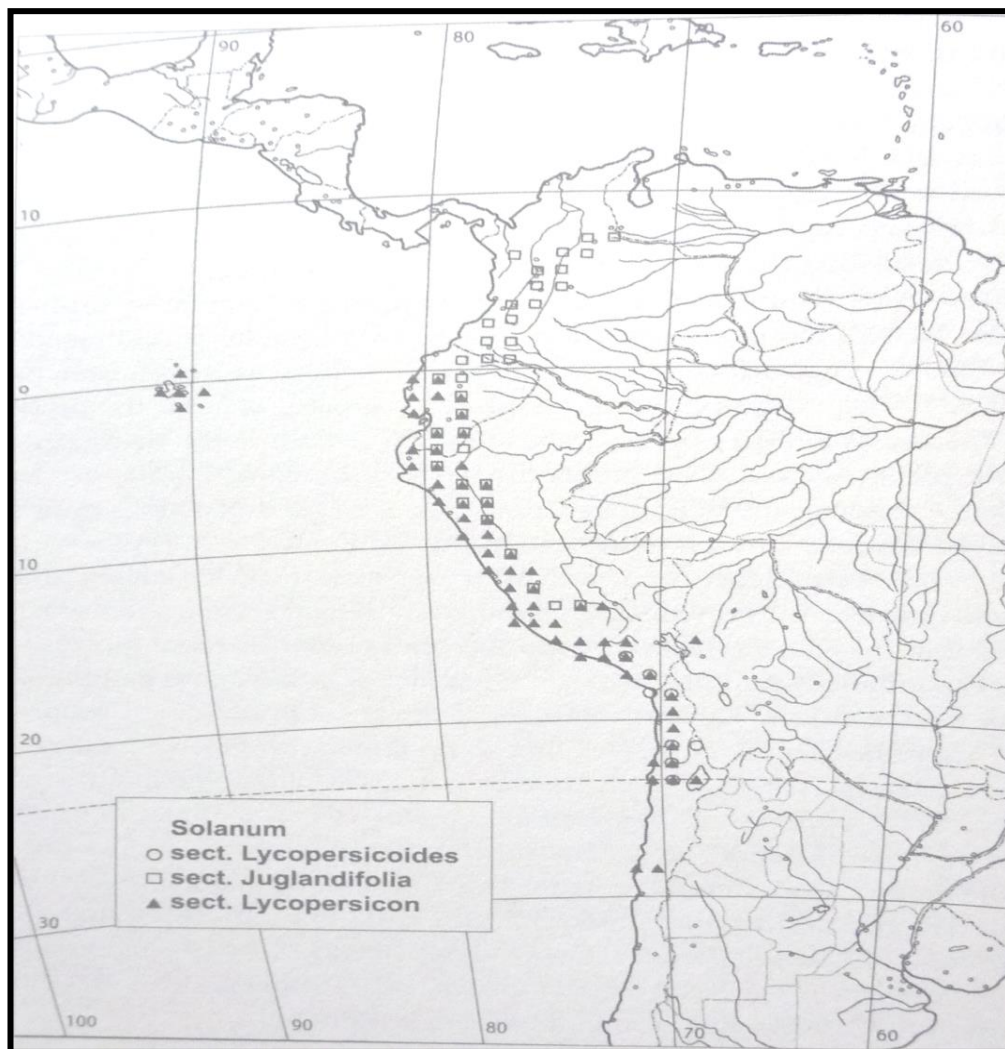


Figura 1. Distribución de las especies silvestres de género *Lycopersicum*.

Fuente: Peralta *et al.*, 2008.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los tomates fueron domesticados en América, sin embargo, el sitio original donde esto ocurrió se desconoce. Los primeros acontecimientos de domesticación han sido poco estudiados (Peralta y Spooner, 2007).

Aunque la prueba definitiva para el tiempo y lugar de la domesticación se desconoce, se presume que es México la región más probable de la domesticación, y Perú como centro de diversidad para los parientes silvestres (Larry y Joanne, 2007).

2.2. Importancia económica

Pocas son las hortalizas que a nivel mundial presentan una demanda tan alta como el tomate. Su importancia radica en que posee cualidades para integrarse en la preparación de alimentos, ya sea cocinado o crudo en la elaboración de ensaladas.

En los últimos años, la producción mundial se ha mantenido estable, con un nivel promedio anual que sobrepasa los 110 millones de toneladas. Uno de los mayores productores de tomate es China, seguido de Estados Unidos y Turquía. Estos países cubren la producción casi del 70% (Cuadro 1).

Cuadro 1. Principales países productores de tomate (t) a nivel mundial.

Producción (t)					
PAÍSES	2004	2005	2006	2007	2008
China	30,143,929	31,618,462	32,519,315	33,596,881	33,811,702
Estados Unidos	12,854,480	10,982,790	12,257,172	14,185,180	12,575,900
Turquía	9,440,000	10,050,000	9,854,877	9,945,043	10,985,400
India	8,125,600	8,825,400	9,820,400	10,054,600	10,260,600
Italia	7,683,071	7,187,014	6,351,202	6,530,162	5,976,912
Irán	4,022,878	4,781,018	5,064,571	5,000,000	5,000,000
Egipto	7,640,818	7,600,000	8,576,070	8,639,024	4,204,039
Brasil	3,515,567	3,452,973	3,362,655	3,431,230	3,934,275
España	4,383,202	4,810,301	3,800,552	3,664,100	3,847,800
México	3,037,265	2,800,115	2,899,153	3,150,353	2,936,773

Fuente: Fao, 1999.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.3. Valor nutritivo

El tomate es una de las hortalizas más consumidas por su sabor agradable, además de los principales aportes nutritivos que proporciona como diversas vitaminas y minerales (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valor nutricional del tomate por 1 kg de sustancia comestible de tomate tipo cherry.

Composición por 100 gramos de porción comestible	
Energía (kcal)	22,0
Agua (g)	93,5
Carbohidratos (g)	4,5
Fibra (g)	0,8
Proteínas (g)	0,6
Lípidos (g)	0,1
Fósforo (mg)	17,0
Potasio (mg)	193,0
Sodio (mg)	70,0
Calcio (mg)	11,0
Magnesio (mg)	11,0
Hierro (mg)	0,4
Retinol (Vitamina A) (UI)	1558
Tiamina (Vitamina B1) (mg)	0,04
Riboflavina (Vitamina B2) (mg)	0,03
Niacina (Vitamina B3) (mg)	0,73
Vitamina C (mg)	22,70
Vitamina E (mg)	0,32
Folatos (mg)	21,0

Fuente: Stommel *et al.*, (2005).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La vitamina C incluyendo el ácido ascórbico, dehidroascorbico es uno de los componentes más importantes en la calidad nutricional en muchos cultivos hortícolas y en actividades metabólicas en el cuerpo (Raffo *et al.*, 2004).

El licopeno es el pigmento responsable de dar la coloración roja de la maduración de los frutos de tomate y el producto juega un papel importante en la salud humana. En estudios epidemiológicos muestran que el licopeno reduce el riesgo de enfermedades crónicas como cardiovasculares, cáncer de próstata o del tracto gastrointestinal. (Mayeaux *et al.*, 2006 citado por Ibitoye, 2009).

2.4. Diversidad genética y recursos fitogenéticos

La variabilidad genética o diversidad genética en sentido amplio es un componente básico de la biodiversidad y se define como las variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones dentro de una especie. (Piñero *et al.*, 2008). “La diversidad genética ocurre al nivel del gen (nivel molecular), de un individuo, de una población, de una especie y de un ecosistema” (Fao, 1999).

Luque y Herráez (2002), hacen una relación entre diversidad y polimorfismo: “La diversidad o variabilidad genética se debe a variaciones en la secuencia del genoma, entonces en un sentido amplio el concepto de diversidad se hace sinónimo de polimorfismo. Polimorfismo literalmente significa “muchas formas”, y concretamente se refiere a polimorfismo genético, cromosómico, de secuencia o de la molécula de Ácido desoxirribonucleico (ADN). Ocurre en regiones codificantes del genoma (polimorfismo génico) como en regiones no codificantes (polimorfismo genético en general).

Se llama recursos fitogenéticos a todo material genético de valor o utilidad real o potencial para la humanidad. Incluye el material para la propagación reproductiva o vegetativa de cultivares, variedades, especies silvestres cercanas y reservas genéticas especiales como ser: plantas élite, líneas mejoradas y mutantes (Zaid *et al.*, 2004). Los recursos fitogenéticos, por lo tanto, se refieren al valor social, científico o económico de los materiales heredables que están contenidos dentro y entre las especies (Fao, 1999).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los recursos genéticos vegetales son recolecciones o poblaciones de materiales reproductivos que se mantienen y utilizan como fuentes de variación genética en el mejoramiento de los cultivos. Su preservación implica recolección, conservación, caracterización, evaluación, documentación, intercambio y capacitación del personal que trabaje con ellos (Manrique, 1989).

2.5. Diversidad de tomate

Las especies silvestres de tomate son fuentes importantes de genes para la resistencia genética a los insectos plaga. En el caso del tomate, existen numerosas especies silvestres del género *Solanum* (Figura 2) que son consideradas como un importante recurso para generar variabilidad genética en los programas de mejoramiento (Casas *et al.*, 2003).

Los niveles de resistencia de los actuales cultivares de tomate no son adecuados, que permitan disminuir significativamente la cantidad de plaguicidas aplicados al cultivo de tomate, situación que amerita el desarrollo de conocimientos que permitan obtener a futuro, cultivares de tomate con resistencia a las principales plagas (Pérez, 2010).

2.6. Conservación de los recursos fitogenéticos

Se ha indicado que la biodiversidad contribuye a la productividad, sostenibilidad y estabilidad de los sistemas agrícolas independientemente del nivel de complejidad de éstos (Kessler, 2008); por otro lado, hay preocupación mundial por su pérdida acelerada (Firbank, 2005).

Sobre lo anterior, Faith *et al.*, (2008) afirman que entre los aspectos biológicos del cambio global ninguno es más importante que la pérdida de biodiversidad. Por su parte, Harvey *et al.*, (2008) aseveran que en el manejo de los sistemas tropicales, el reto mayor es satisfacer la demanda creciente de productos agrícolas, conservar la variabilidad genética y los servicios ecosistémicos críticos y mantener el bienestar de las poblaciones rurales.

Posteriormente, Maxted *et al.*, (2002) postularon que la conservación de la diversidad de plantas es de importancia crítica por los beneficios directos que la humanidad puede derivar de la explotación de cultivos agrícolas y hortícolas mejorados, así como por el potencial del desarrollo de nuevas medicinas y otros productos.

Al respecto, Charafi *et al.*, (2008) indicaron que la conservación de los recursos genéticos es esencial para preservar los atributos de adaptación y disponer de genes importantes para el fitomejoramiento.

En este contexto, Schröder *et al.*, (2007) informaron que alrededor de las tres cuartas partes de la diversidad genética de los cultivos usados en agricultura se perdió en el siglo pasado, con una erosión genética en proceso. Los investigadores agregaron que actualmente 150 cultivos corresponden al alimento de la población humana, y que 12 de éstos suministran 80% de las calorías derivadas de los vegetales; con un aporte de 60% por parte del arroz, trigo, maíz y la papa.

El hombre necesita agregar a su dieta cultivos de alto rendimiento y calidad que se adapten a las condiciones ambientales, cambios climáticos y resistan las plagas y las enfermedades. Puede aprovechar las especies nativas, exóticas, con potencial nutricional o industrial o crear nuevas variedades para lo cual necesitara reservas de material genético cuya conservación, manejo y utilización apenas empiezan a recibir la atención que merecen (Proinpa, 2009).

2.7. Métodos de conservación de recursos fitogenéticos

La conservación de los recursos fitogenéticos es una labor continua, de largo plazo, que implica inversiones importantes en tiempo, personal, instalaciones y operaciones (Maxted *et al.*, 1997).

Las plantas se conservan dependiendo de su necesidad actual y futura. Los recursos fitogenéticos se pueden conservar de diversas maneras: Hay dos formas de conservar los recursos genéticos de la agrobiodiversidad, *in situ* y *ex situ*, las cuales no son excluyentes (Brush,2000).

2.7.1. Conservación *in situ*

La conservación *in situ* (en el mismo lugar), contribuye al mantenimiento de los procesos ecológicos esenciales como la propia evolución de las especies, continuación de la evolución. Los posibles espacios para realizar esta metodología de conservación son: Reservas Nacionales, Parques Nacionales, Santuarios Nacionales; siendo de mayor importancia las

áreas vinculadas con las especies utilizadas por el hombre, vale decir los recursos biológicos y cultivados (Salas, 2001).

La conservación *in situ* es aplicable fundamentalmente a: (a) especies domesticadas por el hombre, (b) especies que no pueden regenerarse fuera de su hábitat, (c) asegurar la protección de especies asociadas, (d) facilitar la investigación de una especie en su hábitat (Salas, 2001).

En general este tipo de conservación ha sido considerada problemática por su complejidad y costo ya que, en principio, precisaría de constante supervisión y de incentivos a los agricultores para compensar los menores rendimientos de las variedades tradicionales (Esquinas-Alcázar, 1993).

2.7.2. Conservación *ex situ*

La conservación *ex situ*, se define como la conservación de muestras genéticamente representativas de las especies, que se mantienen viables a través del tiempo, fuera de su hábitat natural, o lugares de cultivo, en ambientes controlados y con el apoyo de tecnologías apropiadas para dicho propósito (Frankel y Soulé, 1992).

Se llama *accesión* a una muestra de cualquier tamaño de una variedad de cultivo recolectada en un lugar y un tiempo determinado, mantenida como semilla o como material vegetativo (Sarmiento, 2000).

El término *germoplasma* está formado por la raíz *germen* (“inicio” u “origen”) y *plasma* (“formación”), definiéndose como todo “material genético capaz de regenerar otra materia viva igual o similar a la original” (Perrino y Terzi, 2003).

Los centros encargados de la conservación de la biodiversidad contenida en el germoplasma suelen denominarse bancos de germoplasma o bien bancos de semillas, si el material conservado se basa principalmente en semillas o también en sentido amplio *genebanks* (bancos de genes), pudiendo incluir colecciones vivas, cultivos *in vitro* o bancos de ADN. Las muestras de material recolectado que se introducen en los bancos de germoplasma para su conservación suelen recibir el nombre de *accesiones* (Bacchetta *et al.*, 2008).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.8. Etapas de la conservación ex situ de recursos fitogenéticos

La conservación ex situ de germoplasma comprende una serie de actividades que inician con la adquisición del material y pueden llegar a incluir la utilización del mismo o el aprestamiento para la utilización. Estas actividades o etapas incluyen: La adquisición del germoplasma, la multiplicación previa al almacenamiento, el almacenamiento propiamente dicho y el manejo del germoplasma conservado, que comprende la caracterización y la evaluación, la regeneración y la multiplicación para distribución y uso, la documentación y la utilización o el aprestamiento para la utilización (Jaramillo y Baena, 2000).

2.9. Caracterización y evaluación

Los recursos fitogenéticos se conservan para utilizarlos, y ello sólo es posible si se conocen sus características y posibles usos. La información que nos permite conocer el germoplasma y determinar su utilidad proviene de tomar y analizar un conjunto de datos sobre el germoplasma, en diversas etapas de la conservación, pero principalmente durante la caracterización y la evaluación (Jaramillo y Baena, 2000).

La caracterización y la evaluación son actividades complementarias que consisten en describir los atributos cualitativos y cuantitativos de las accesiones de una misma especie para diferenciarlas, determinar su utilidad, estructura, variabilidad genética y relaciones entre ellas, y localizar genes que estimulen su uso en la producción o en el mejoramiento de cultivos (Jaramillo y Baena, 2000).

El objetivo principal de la caracterización es la descripción de las accesiones, mientras que el de la evaluación es conocer el valor agronómico de los materiales. La distinción entre ambas actividades es esencialmente de orden práctico (Abadie y Berretta, 2001).

2.10. Caracterización morfológica

Se entiende por caracterización a la descripción de las accesiones que existen en una colección de germoplasma, y su variación en términos de características morfológicas y fenológicas de alta heredabilidad, es decir características cuya expresión es poco influenciada por el ambiente (van Hinthum, 1995). La caracterización debe permitir diferenciar a las accesiones de una especie.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Normalmente la caracterización se realiza en ensayos de plantas aisladas o pequeños surcos, debiendo utilizarse un número de plantas que respete la estructura genética de las accesiones. La uniformización de los descriptores utilizados es un requisito para que la caracterización tenga valor universal (Abadie y Berretta, 2001).

2.11. Descriptores

El uso de listas de descriptores bien definidos y rigurosamente probados simplifican considerablemente todas las operaciones que tienen que ver con el registro de datos, actualización, modificación, recuperación de información, intercambio, análisis y transformación de datos (Abadie y Berretta, 2001).

Los descriptores para la caracterización deben reunir las siguientes características: ser fácilmente observables, tener una alta acción discriminante y baja influencia ambiental, lo que permite en algunos casos registrar la información en los sitios de colecta (Abadie y Berretta, 2001).

La guía de descriptores de una especie es un conjunto de descriptores que tiene el objetivo de racionalizar el trabajo de toma de datos en campo durante la caracterización y evaluación. La guía se elabora respetando las reglas para elaboración de guías de descriptores y considerando antecedentes para especies o géneros similares o de uso similar (Sevilla y Holle, 1995).

Las listas de descriptores más utilizadas han sido elaboradas por investigadores de países industrializados buscando satisfacer las necesidades de sus programas de investigación. El IPGRI ha coordinado el trabajo de grupos de investigadores para elaborar guías de especies conocidas o semi-convencionales (Sevilla y Holle, 1995).

Los principales tipos de datos de la caracterización son: características de la planta, hojas, flores, frutos y semillas donde se medirá cuantitativamente con un vernier o cualitativamente a simple vista.

En el trabajo de investigación de la caracterización de 20 accesiones de tomate realizada en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), realizado por Florido *et al.*,

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

(2002) se utilizaron los descriptores de IPGRI la que permitió encontrar cuatro grupos diferentes.

2.12. Análisis estadístico morfológico

2.12.1. Métodos para el análisis de datos de caracterización.

Los datos se pueden analizar mediante el empleo de métodos simples o complejos, que van desde el uso de gráficos y estadísticos de tendencia central y dispersión hasta los multivariados. El análisis tiene el propósito de reducir el volumen de información característico en trabajos de esta naturaleza. Mediante la aplicación de estos métodos sobre la MBD es posible obtener conclusiones acerca de la variabilidad y la utilidad del germoplasma, por tanto, los datos deben representar fielmente las características y el comportamiento de las accesiones (Franco e Hidalgo, 2003).

Estadísticos simples. Permiten estimar y describir el comportamiento de las diferentes accesiones en relación con cada carácter. Los más comunes son el promedio, la media aritmética, el rango de variación, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV), que se utilizan en el análisis de datos cuantitativos. Estos se deben realizar antes de cualquier análisis multivariado, ya que proporcionan una idea general de la variabilidad del germoplasma y permiten inmediatamente detectar datos no esperados y errores de medición en el ingreso de datos, entre otros (Franco e Hidalgo, 2003).

La media aritmética. Es una medida de tendencia central que ayuda a caracterizar el germoplasma y permite relacionar un atributo de una accesión con un valor central de dicho atributo.

El rango de variación o amplitud total. Se define como la diferencia entre el valor mínimo y el máximo de cualquier variable sobre el conjunto de accesiones estudiadas.

La desviación estándar. Cuantifica la magnitud de la variación respecto a la media aritmética y se expresa en las mismas unidades que las observaciones originales. Proporciona una idea del estado (próxima o dispersa) de la mayoría de las accesiones de la colección en relación con una característica considerada.

El coeficiente de variación. Es una medida relativa de variación que define más intrínsecamente la magnitud de la variabilidad de los caracteres estudiados debido a que es independiente de las unidades de medida. Facilita la comparación de la variabilidad de una misma característica en dos grupos de accesiones o de caracteres medidos sobre la misma colección (Franco e Hidalgo, 2003).

2.12.2. Métodos multivariados.

En la caracterización de recursos fitogenéticos el análisis multivariado se puede definir como un conjunto de métodos de análisis de datos que tratan un gran número de mediciones sobre cada accesión del germoplasma. Su virtud principal consiste en permitir la descripción de las accesiones tomando en cuenta simultáneamente varias características, sin dejar de considerar la relación existente entre ellas (Hair *et al.*, 1992).

A continuación, se presenta un resumen de los métodos multivariados más usados para el análisis de datos de colecciones de germoplasma.

Análisis de componentes principales (ACP).

Desde el punto analítico, este método se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. Los componentes deben ser interpretados independientemente unos de otros, ya que contienen una parte de la varianza que no está expresada en otro componente principal (Pla, 1986; López e Hidalgo, 1994a).

El ACP concentra toda la variación presente en la matriz de datos originales en unos pocos ejes o componentes. Los componentes principales contienen información en diferentes proporciones de todas las variables originales y su número depende del número de éstas que se incorporen en el análisis.

El ACP es una herramienta útil para analizar los datos que se generan de la caracterización y evaluación preliminar de germoplasma, y permite conocer la relación existente entre las variables cuantitativas consideradas y la semejanza entre las accesiones; en el primer caso, con el fin de saber cuáles variables están o no asociadas, cuáles caracterizan en el mismo sentido o en el sentido contrario; y en el segundo, para saber cómo se distribuyen las

accesiones, cuáles se parecen y cuáles no. También permite seleccionar las variables cuantitativas más discriminatorias para limitar el número de mediciones en caracterizaciones posteriores.

Una metodología alternativa que ayuda en la toma de decisiones relacionadas con los componentes realmente importantes consiste en construir una gráfica de barras utilizando los valores de la varianza absoluta para cada componente en el eje Y, y los componentes principales en el eje X.

Análisis de conglomerados (Clúster)

Es un método analítico que se puede aplicar para clasificar las accesiones de un germoplasma (o variables) en grupos relativamente homogéneos con base en alguna similitud existente entre ellas. El objetivo en este análisis es clasificar un conjunto de **n** accesiones o **p** variables en un número pequeño de grupos o conglomerados, donde la formación de estos grupos puede obedecer a leyes naturales o a cualquier conjunto de características comunes a las accesiones.

El método de conglomerados o análisis de clúster se puede aplicar sobre una matriz básica de datos **n x p** o sobre una matriz **n x n**, o **p x p**, donde **n** es el número de accesiones que se quieren agrupar y **p** son las variables (Hair et al., 1992; López e Hidalgo, 1994b).

Este método se utilizó en el estudio de 61 accesiones de tomate caracterizadas en el Centro Nacional de Producción de Semillas de Hortalizas; utilizando el análisis multivariado, se logró identificar 3 grupos diferentes determinado por la forma y tamaño de sus frutos (Rojas, 2011).

2.13. Marcadores genéticos

Existen dos clases de marcadores genéticos: los morfológicos y los moleculares (Tanksley, 1983). En primer orden, la caracterización e identificación tradicional de variedades se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos y/o agronómicos (Rallo *et al.*, 2002).

No obstante, el uso de marcadores morfológicos en las plantas tiene muchas limitantes, pues su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos; por ejemplo, la presencia o ausencia de espinas en los cítricos. Con frecuencia estos marcadores solo es posible evaluarlos a nivel de toda la planta y cuando esta llega a su estado adulto. Para la gran mayoría de frutales tropicales esto significa una espera, no deseable, de varios años. Además, pueden ocurrir cambios epigenéticos que limitan el número de marcadores que pueden ser evaluados sin equivocación en la población segregante (Powell, 1992; Phillips *et al.*, 1995).

Por otro lado, gracias a los avances en la biología molecular 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 limitaciones de los métodos tradicionales (Azofeita, 2006).

2.14. Marcadores moleculares

Un marcador molecular es simplemente un segmento de ADN con una ubicación específica en un cromosoma (punto de referencia) cuya herencia puede seguirse en individuos de una población. La secuencia puede pertenecer a regiones codificantes (genes) o sin función conocida (Levitus *et al.*, 2010).

Con el advenimiento de las técnicas modernas de biología molecular, surgieron diversos métodos de detección de polimorfismo genético directamente a nivel de ADN. En la actualidad, se puede obtener un número prácticamente ilimitado de marcadores en cualquier organismo vivo que permiten analizar la totalidad de la información genética (genoma) de un organismo (Cuadro 3) (Levitus, *et al.*, 2010).

Cuadro 3. Ventajas de los marcadores moleculares, en relación a los marcadores morfológicos.

Marcadores morfológicos	Marcadores moleculares
<p>-Es necesario mucho esfuerzo y planificación para construir mapas genéticos a partir de marcadores morfológicos. Se debe recurrir a un gran número de cruzamientos para el estudio de ligamiento genético.</p> <p>-Presentan polimorfismo limitado.</p> <p>-Son dominantes o recesivos.</p> <p>-Los marcadores morfológicos pueden ser afectados por efectos epistáticos.</p> <p>-Por lo general, son identificados en su mayoría a nivel de planta entera o adulta</p>	<p>-Permiten acelerar el proceso de selección de los individuos deseados y consecuentemente reducir el tiempo necesario para completar una generación de mejoramiento, lo cual aumenta la eficacia del programa.</p> <p>-El nivel de polimorfismo de los marcadores moleculares es alto para cada locus estudiado.</p> <p>-Muchos son codominantes y contienen mayor cantidad de información genética por locus que los marcadores morfológicos.</p> <p>-En general son neutros con relación a los efectos fenotípicos.</p> <p>-Los marcadores basados en ADN pueden ser utilizados en cualquier fase del desarrollo de la planta.</p>

Fuente: Ferreira y Grattapaglia (1998)

2.15. Marcadores microsatélites

Los marcadores microsatélites o Secuencias Simples Repetidas (SSRs) son regiones del genoma en las que una secuencia corta, 2-6 pares de bases, se repite un cierto número de veces. Cada locus microsatélite tiene alelos con distinto número de repeticiones, lo cual se evidencia en bandas de distinto tamaño luego de su amplificación por reacción en cadena de la

polimerasa (PCR). Estos marcadores se heredan de manera codominante, permitiendo diferenciar bandas en individuos homocigotos y heterocigotos (Zhang, 2004).

Los microsatélites presentan altas tasas de mutación, lo que permite diferenciar individuos estrechamente emparentados (Zhang, 2004).

La figura 2 muestra un ejemplo de microsatélite en que la secuencia repetida es de adenina y citosina, es decir de dos pares de bases, con sus correspondientes pares en la cadena complementaria. Flanqueando el microsatélite se encuentran las secuencias donde se complementan los iniciadores:

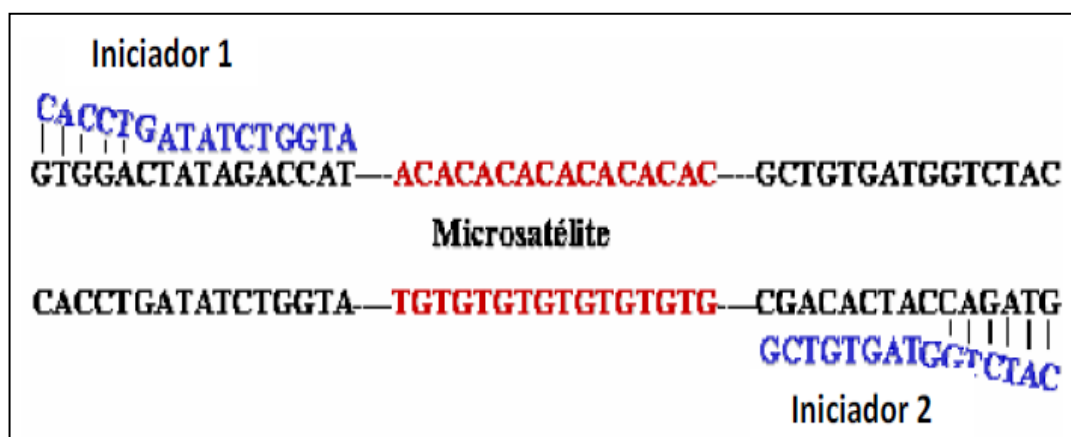


Figura 2. Composición de una región microsatélite.

Fuente: Aranguren-Méndez *et al.*, (2005).

El estudio realizado de Veintiséis rasgos morfológicos, así como 47 de polimorfismo de un solo nucleótido y secuencia simple repetida de marcadores se utilizaron para investigar la variación genética en 67 variedades de tomate aproximadamente el 65,0% de los rasgos morfológicos y el 55,3% de los marcadores moleculares mostraron polimorfismos en las 67 variedades (Hu *et al.*, 2010).

2.16. Tipos de microsatélites

Chambers y MacAvoy (2000) proponen que los términos puro (o perfecto), compuesto y complejo se utilice para especificar que uno, dos o más tipos de motivos, respectivamente, se encuentran presentes a lo largo de un locus microsatélite dado, y que el termino interrumpido

(o imperfecto) como un descriptor jerárquico adicional que implica una o más unidades no repetitivas en el interior de los microsatélites (Cuadro 4).

Cuadro 4. Clasificación de microsatélites.

Tipo de microsatelite	Ejemplos
SSR Puro	(ACC) ₉
SSR Interrumpido puro	(ACC) ₆ TG (ACC) ₇
SSR Compuesto	(ACC) ₅ (TTG) ₉
SSR Interrumpido compuesto	(ACC) ₈ TG (ACC) ₅ GA (TTA) ₆
SSR Complejo	(ACC) ₈ TG (GA) ₁₂ (TTA) ₅ GC

Fuente: Chambers y MacAvoy (2000).

2.17. Características y ventajas de los microsatélites

La razón principal del incremento del uso de los SSRs como una herramienta molecular es que proveen la más alta incidencia de polimorfismo o PIC (Polymorphic Information Content) en comparación con otras técnicas como RFLPs y RAPDs (Powell *et al.*, 1996).

Ventajas:

- Requieren muy poco ADN y éste no necesariamente de alta calidad
- Sumamente polimórficos
- Uniformemente distribuidos en todo el genoma
- Interpretación sencilla de los resultados
- Automatizados fácilmente, y permiten la carga simultánea de productos en el mismo carril
- Buena resolución analítica y alta reproducibilidad

Una de las desventajas es el alto costo que presenta y el procedimiento de descubrimiento complejo. (IPGRI, 2003).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.18. Análisis estadístico molecular

2.18.1. Análisis de estructura poblacional

Coefficientes de similitud

Se usan coeficientes de similitud para establecer relaciones genéticas entre individuos, y a partir de ellos realizar análisis que permitan evaluar la estructura genética en grupos de individuos. A continuación, se muestran algunos ejemplos de coeficientes de similitud utilizados para establecer relaciones entre individuos de acuerdo a la presencia de alelos. Para todos los coeficientes, a, b, c, d representan las cuatro combinaciones posibles de presencia (1) o ausencia (0) de alelos que pueden obtenerse al comparar dos individuos (De Vicente y Fulton, 2004).

El Coeficiente de Concordancia Simple $(a + d) / (a + b + c + d)$

Considera que la ausencia corresponde a loci homocigóticos. Puede usarse con datos de marcadores dominantes (RAPD y AFLP), por cuanto las ausencias podrían corresponder a recesivos homocigóticos.

El Coeficiente de Jaccard

$$J = a / (a + b + c)$$

Solamente cuenta las bandas presentes para cualquiera de los individuos ('i' o 'j'). Las ausencias dobles se consideran como datos ausentes. Puede aplicarse con datos de marcadores codominantes.

El Coeficiente de Nei-Li

$$NL = 2a / (2a + b + c)$$

Cuenta el porcentaje de bandas compartidas entre dos individuos y le da más importancia a aquellas bandas presentes en ambos. Considera que la ausencia tiene menor importancia biológica. Puede aplicarse con datos de marcadores codominantes (RFLP, SSR) (De Vicente y Fulton, 2004).

2.18.2. Análisis de conglomerados

La clasificación o agrupación, es el proceso de agrupar o conglomerar objetos en categorías o clases, con base en sus particularidades o relaciones comunes. Se emplea la clasificación jerárquica debido a la naturaleza de las relaciones entre individuos; es decir, el individuo, la población, la accesión, la variedad, son unidades que no pueden ser asignadas simultáneamente a dos grupos diferentes (García *et al.*, 1995). Se selecciona un método de agrupación, de manera que se pueda trazar un diagrama de árbol o dendograma. En la agrupación jerárquica se da la misma importancia a todos los caracteres analizados (De Vicente y Fulton, 2004).

Se utilizó un coeficiente o índice de similitud en el procedimiento de análisis en conglomerados para mostrar las relaciones entre las muestras. Los coeficientes de similitud difieren en su enfoque para estimar el número de coincidencias y diferencias (De Vicente y Fulton, 2004).

Se realizó un estudio en el empleo de marcadores RAPD para el análisis de la variabilidad genética en genotipos de tomate donde de utilizo el análisis de conglomerados se identificaron dos grupos (Mukandama *et al.*, 2004).

En el estudio realizado utilizando la secuencia simple repetida de marcadores El análisis de agrupamiento indicó que 67 variedades se podrían agrupar en tres grupos, tanto a nivel morfológico y molecular (Hu *et al.*, 2010).

2.18.3. Análisis de coordenadas principales (PCoA)

La ordenación es un método multivariado que complementa la agrupación y casi siempre se le considera como una estrategia que más se aproxima a la realidad biológica. Lo que se quiere representar con los métodos de ordenación son las relaciones de las muestras de una manera sencilla, al reducir la situación real a un 'espacio dimensional bajo' (Gauch, 1982).

Con el análisis de coordenadas principales, es posible ver las Unidades Taxonómicas Observadas (UTOs) como puntos en algún espacio dimensional reducido, en el cual cualquier medida de distancia entre dos puntos reflejara la relación entre los correspondientes UTOs,

como los indicados en la matriz de similitud calculada. Es por eso que el análisis de coordenadas principales puede ser muy útil para indicar la estructura taxonómica de la colección de organismos. Sin embargo, esta no deja una separación explícita dentro los grupos (Dunn y Everett, 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del ensayo

El trabajo de campo, se realizó en el Centro Nacional de Producción de Semillas de Hortalizas (CNPSH), dependiente del Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF), utilizando 2 invernaderos (Figura 3).



Figura 3. Invernadero donde se realizó el trabajo de campo.

Fuente: Elaboración propia.

El INIAF-CNPSH se encuentra ubicado en el Municipio de Sipe Sipe de la provincia Quillacollo, a 23.5 Km de Cochabamba. Geográficamente ubicada a 17°22' de latitud sud y 66°19' de longitud oeste, a una altura de 2505 metros sobre el nivel del mar.

3.2. Materiales

3.2.1. Material vegetal

El material vegetal utilizado para la investigación estuvo conformado por 71 accesiones de tomate provenientes del banco de germoplasma de la FCAPFyV y del banco de germoplasma del INIAF-CNPSH (Cuadro 5).

Cuadro 5. Códigos de las 71 accesiones utilizadas en la caracterización.

No. Acc.	Accesión	Código	Número	No. Acc.	Accesión	Código	Número
1	JDR 101	CIF-UMSS-TO	165	37	JGC 187	CIF-UMSS-TO	125
2	HMR 105	CIF-UMSS-TO	167	38	JGC 188a	CIF-UMSS-TO	126
3	HMR 109	CIF-UMSS-TO	171	39	JGC 188b	CIF-UMSS-TO	127
4	HMR 110	CIF-UMSS-TO	172	40	JGC 189	CIF-UMSS-TO	128
5	JDR 111	CIF-UMSS-TO	173	41	JGC 190	CIF-UMSS-TO	129
6	HMR 112	CIF-UMSS-TO	174	42	JGC 191	CIF-UMSS-TO	130
7	JDR 113	CIF-UMSS-TO	175	43	JGC 193	CIF-UMSS-TO	132
8	JDR 114	CIF-UMSS-TO	176	44	JGC 194	CIF-UMSS-TO	133
9	HMR 117	CIF-UMSS-TO	179	45	JGC 195	CIF-UMSS-TO	134
10	JDR 118	CIF-UMSS-TO	180	46	JGC 196	CIF-UMSS-TO	135
11	HMR 119	CIF-UMSS-TO	181	47	JGC 199	CIF-UMSS-TO	136
12	SRL 120	CIF-UMSS-TO	182	48	JGC 200	CIF-UMSS-TO	208
13	SRL 121	CIF-UMSS-TO	183	49	JGC 200a	CIF-UMSS-TO	137
14	JDR 122	CIF-UMSS-TO	184	50	JGC 200b	CIF-UMSS-TO	138
15	JDR 123	CIF-UMSS-TO	185	51	JGC 201	CIF-UMSS-TO	139
16	SRL 124	CIF-UMSS-TO	186	52	JGC 202	CIF-UMSS-TO	140
17	JDR 125	CIF-UMSS-TO	187	53	JGC 203	CIF-UMSS-TO	141
18	HMR 126	CIF-UMSS-TO	188	54	RMA 205	CIF-UMSS-TO	145
19	HMR 127	CIF-UMSS-TO	189	55	RMA 206	CIF-UMSS-TO	146
20	JDR 128	CIF-UMSS-TO	190	56	RMA 207	CIF-UMSS-TO	147
21	JDR 129	CIF-UMSS-TO	191	57	RMA 208	CIF-UMSS-TO	148
22	HMR 130	CIF-UMSS-TO	192	58	RMA 209	CIF-UMSS-TO	149
23	HMR 131	CIF-UMSS-TO	193	59	RMA 211	CIF-UMSS-TO	151
24	JDR 132	CIF-UMSS-TO	194	60	RMA 212	CIF-UMSS-TO	152
25	HMR 133	CIF-UMSS-TO	195	61	RMA 213	CIF-UMSS-TO	153
26	JDR 134	CIF-UMSS-TO	196	62	RMA 214	CIF-UMSS-TO	154
27	SRL 135	CIF-UMSS-TO	197	63	RMA 215	CIF-UMSS-TO	155
28	HMR 138	CIF-UMSS-TO	200	64	RMA 216	CIF-UMSS-TO	156
29	SRL 139	CIF-UMSS-TO	201	65	RMA 217	CIF-UMSS-TO	157
30	JDR 140	CIF-UMSS-TO	202	66	RMA 218	CIF-UMSS-TO	158
31	HMR 141	CIF-UMSS-TO	203	67	RMA 219	CIF-UMSS-TO	159
32	SRL 152	CIF-UMSS-TO	113	68	RMA 220	CIF-UMSS-TO	160
33	RMA 167a	CIF-UMSS-TO	118	69	RMA 221	CIF-UMSS-TO	161
34	JGC 181	CIF-UMSS-TO	119	70	RMA 223	CIF-UMSS-TO	163
35	JGC 182	CIF-UMSS-TO	120	71	RMA 225	CIF-UMSS-TO	164
36	JGC 186	CIF-UMSS-TO	124				

Fuente: Elaboración propia

3.2.2. Material de campo

- Bandejas para almacigo de 128 alveolos
- Etiquetas de plástico
- Agrofilm de 250 micras
- Alambre galvanizado
- Bolillos para tutoraje
- Goteros
- Bolsas plásticas
- Pitas para tutorado
- Atomizador
- Jabón líquido
- Guantes
- Alcohol
- Calibrador vernier
- Cuaderno de campo
- Cámara
- Otros

3.3. Metodología del invernadero**3.3.1. Preparación del sustrato**

El sustrato se preparó con arena fina, cascarilla de arroz requemada y con materia orgánica a una relación de 1:1:1, seguidamente se mezcló y se procedió en la desinfección con vapor de agua a una temperatura de 105 °C. Esta desinfección se realizó para eliminar patógenos indeseables.

3.3.2. Siembra en almacigo

El almacigo se realizó en 14 bandejas de plástico cada una de 128 alveolos, los cuales fueron rellenos con el sustrato desinfectado en capacidad de campo. Se tomaron ocho alveolos para cada accesión, seguidamente se sembró 2 semillas por alveolo a una profundidad

de 5mm tapando inmediatamente después con el mismo sustrato utilizando un cernidor de una malla de 2 a 3mm de diámetro (Figura 4).



Figura 4. Preparación del tomate en almacigo bajo invernadero.

Fuente: Elaboración propia.

3.3.3. Labores culturales en almacigo

- **Riego**

El riego se realizó después del tapado dos veces al día, después de la germinación los riegos con micro aspersion se realizaron dos veces al día uno en la mañana y el otro en la tarde, hasta antes del trasplante de los plantines hacia el invernadero.

- **Repique**

Se realizó el repique que consiste en trasladar plantines de un alveolo a otro donde no hubo germinación, con el objetivo de tener el número necesario de plantines para la implementación del ensayo en terreno definitivo.

3.3.4. Preparación de macetas y trasplante

Se utilizaron bolsas plásticas de 0.30*0.40m que equivale a ocho litros de volumen, posteriormente fueron llenadas con sustrato desinfectado y trasladadas al invernadero. Cuando las plántulas de cada accesión alcanzaron una altura mayor a 10 cm y hayan presentado tres hojas verdaderas, se procedió al trasplante de las plántulas al invernadero, colocando una plántula por maceta (Figura 5).



Figura 5. A. Colocación de las macetas al invernadero. B. Trasplante de las plántulas de tomate a macetas.

Fuente: Elaboración propia.

3.3.5. Labores culturales después de trasplante

- **Riego.**

El riego se realizó mediante el sistema por goteo, se efectuó a un tiempo de 30 minutos. La frecuencia fue de dos veces al día, seguidamente se realizó el control de los goteros en cada maceta (Figura 6).



Figura 6. A. Instalación del sistema de riego. B. Colocación de los goteros a las macetas.

Fuente: Elaboración propia.

- **Deshierbe**

El deshierbe se realizó manualmente con la ayuda de una herramienta de campo, con el objetivo de evitar la presencia de plagas y enfermedades, antes de la toma de datos.

- **Control de plagas y enfermedades**

Para el control de enfermedades se utilizaron productos químicos, entre ellos se utilizó Karate (Lambdacihalotrina), Perfecthion (Dimethoato). La plaga de mayor presencia fue la mosca blanca.

- **Fertilización**

La fertilización se realizó mediante el fertirriego, esta aplicación se fue realizando en las mañanas, los productos que se utilizaron fueron fosfato mono amónico, nitrato de calcio, nitrato de potasio, urea y sulfato de magnesio (Cuadro 6).

La aplicación se realizó todos los días desde el comienzo del crecimiento vegetativo hasta la aparición de los primeros frutos.

Cuadro 6. Cantidad de fertilizante en el fertirriego

FERTILIZANTES	Cantidad g/320m2
Fosfato mono amónico	2801
Nitrato de calcio	3294
Nitrato de potasio	2367
Urea	316
Sulfato de magnesio	3512

Fuente: Elaboración propia

- **Tutorado.**

El tutorado se realizó utilizando 3 pitas, una al eje central de la planta y las otras dos o tres laterales, todas atadas a un alambre galvanizado para soportar el peso de los frutos. Se debe realizar esta práctica debido a que la planta tiene que estar erguida para evitar que el fruto llegue al suelo, evitando así el ataque de diferentes plagas y enfermedades hacia el fruto o hacia la misma planta (Figura 7).



Figura 7. A. Tutorado de las accesiones de tomate. B. Planta tutorada con tres pitas.

Fuente: Elaboración propia

3.3.6. Extracción de semilla

Al momento de la madurez del fruto se procedió al trillado de la misma, con la ayuda de un estilete se realizó un corte para la posterior extracción de semilla sobre un envase, dejándolo fermentar por una noche (para que desprenda su mucilago y posterior lavado). Al obtener la semilla limpia se procedió al secado de la misma, utilizando un papel sábana dejándolo por un lapso de dos días (Figura 8).



Figura 8. Extracción de semilla de tomate en envases.

Fuente: Elaboración propia

3.4. Caracterización morfológica de tomate por IPGRI

La caracterización morfológica para ser evaluada se realizó utilizando el descriptor de tomate del IPGRI (IPGRI, 1996) que se detallan a continuación.

Caracterización en plántula

Registrado cuando las hojas primarias de la plántula están completamente abiertas y el tamaño del brote terminal es de unos 5 mm.

3.4.1. Color del hipocótilo

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| 1 Verde | 2 ¼ morado desde la base |
| 3 ½ morado desde la base | 4 Morado |

3.4.2. Intensidad del color del hipocótilo

- 3 Baja
- 5 Intermedia
- 7 Alta

3.4.3. Pubescencia del hipocótilo

- 0 Ausente
- 1 Presente

3.4.4. Longitud de la hoja primaria (mm)

Se registró con el promedio de 10 hojas cotiledóneas

3.4.5. Ancho de la hoja primaria (mm)

Se registró con el promedio de 10 hojas cotiledóneas

Características de la planta

Se observó cuando los frutos del segundo y tercer racimo están maduros.

3.4.6. Tipo de crecimiento de la planta

- | | |
|-------------------|-----------------|
| 1 Enano | 2 Determinado |
| 3 Semideterminado | 4 Indeterminado |

3.4.7. Tamaño de la planta

- 3 Pequeña
- 5 Intermedia
- 7 Grande

3.4.8. Densidad de la pubescencia del tallo

- 3 Escasa
- 5 Intermedia
- 7 Densa

3.4.9. Longitud del entrenudo del tallo

- 3 Corta
- 5 Intermedia
- 7 Larga

3.4.10. Densidad del follaje

- 3 Escasa
- 5 Intermedia
- 7 Densa

3.4.11. Número de hojas en la primera inflorescencia

- 3 Pocas
- 7 Muchas

3.4.12. Posición de la hoja

- 3 Semierecta
- 5 Horizontal
- 7 Inclínada (colgante)

3.4.13. Tipo de hoja (Figura 9)

- 1 Enana
- 2 Tipo de hoja de papa
- 3 Estándar
- 4 Peruvianum
- 5 Pimpinellifolium
- 6 Hirsutum
- 7 Otro

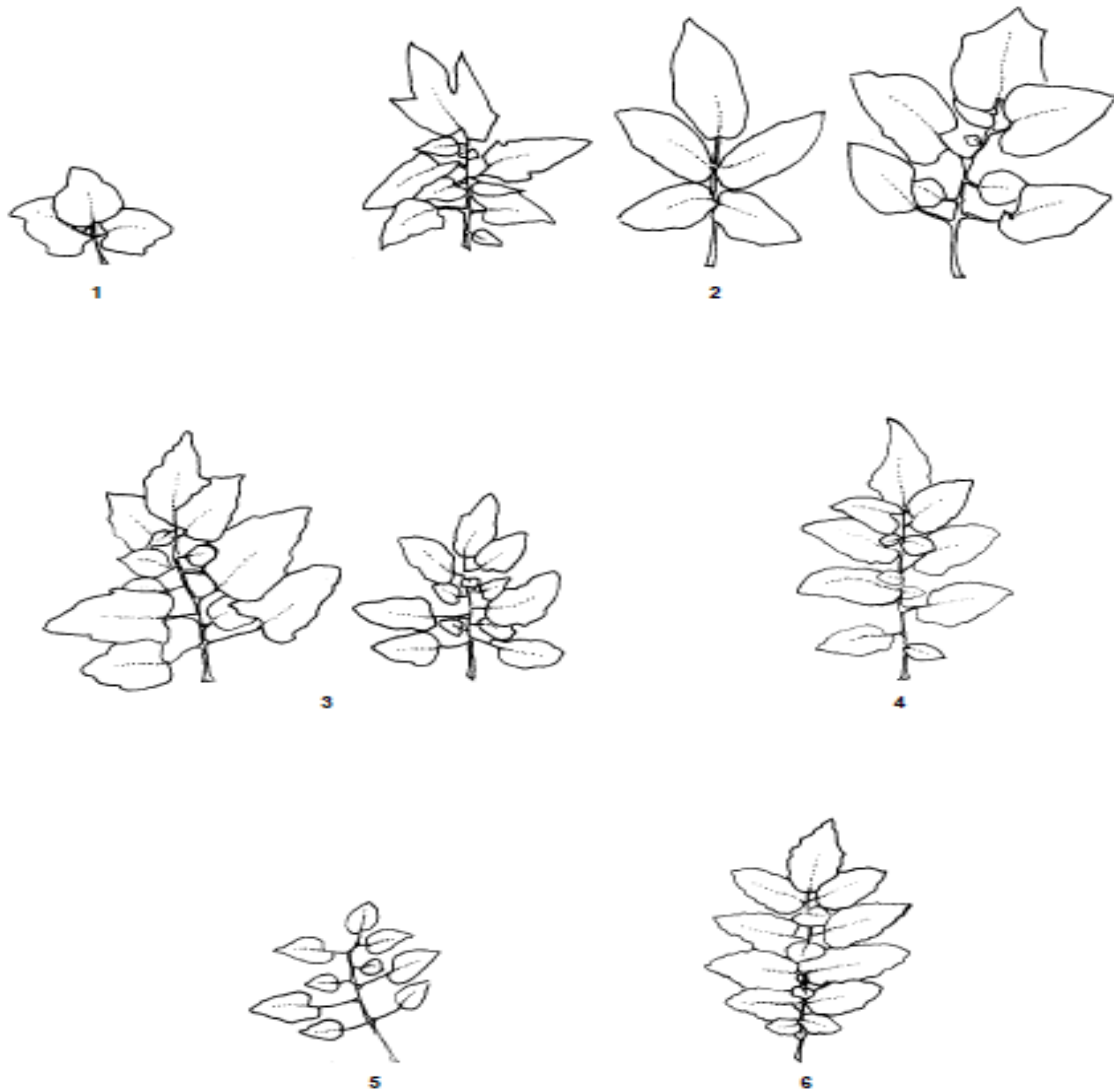


Figura 9. Tipos de hojas según el IPGRI.

Fuente: IPGRI, 1996.

3.4.14. Grado de disección de la hoja

- 3 Bajo
- 5 Intermedio
- 7 Alto

3.4.15. Coloración antocianínica de las venas

- 1 Venas oscuras
- 2 Normales

Inflorescencia y fruto

Descriptorios de la inflorescencia

3.4.16. Tipo de inflorescencia

- 1 Generalmente uníparo
- 2 Ambos
- 3 Generalmente multípara

3.4.17. Color de la corola

- | | |
|--------------|------------|
| 1 Blanco | 2 Amarillo |
| 3 Anaranjado | 4 Otro |

3.4.18. Tipo de corola

- 1 Cerrada
- 2 Abierta

3.4.19. Longitud del pétalo (mm)

Promedio de 10 pétalos de diferentes flores de diferentes plantas medido por un vernier calibrador.

3.4.20. Longitud del sépalo (mm)

Promedio de 10 sépalos de diferentes flores de diferentes plantas medido por un vernier calibrador.

3.4.21. Posición del estilo

- | | | | |
|---|------------------------|---|-----------------------------|
| 1 | Insertado | 2 | Mismo nivel que el estambre |
| 3 | Ligeramente proyectado | 4 | Muy proyectado |

3.4.22. Forma del estilo

- 1 Simple
- 2 Fasciculado
- 3 Dividido

3.4.23. Pubescencia del estilo

- 1 Ausente
- 2 Presente

3.4.24. Longitud del estambre (mm)

Promedio de 10 estambres de diferentes flores de diferentes plantas medido por un vernier calibrador.

Descriptores del fruto

Todas las observaciones del fruto se hicieron en el segundo racimo y/o tercer racimo de la planta

3.4.25. Color exterior del fruto no maduro

Se observó visualmente:

- | | | | |
|---|------------------|---|--------------|
| 1 | Blanco verduzco | 3 | Verde claro |
| 5 | Verde | 7 | Verde oscuro |
| 9 | Verde muy oscuro | | |

3.4.26. Rayas verdes en el fruto (hombros)

Se observó visualmente:

- 0 Ausente
- 1 Presente

3.4.27. Intensidad del greenback (hombros verdes)

Se observó visualmente:

- 3 Leve
- 5 Intermedia
- 7 Fuerte

3.4.28. Pubescencia del fruto

- 3 Escasa
- 5 Intermedia
- 7 Densa

3.4.29. Forma predominante del fruto (Figura 10)

- | | |
|--------------|------------------------|
| 1 Achatado | 2 Ligeramente achatado |
| 3 Redondeado | 4 Redondo-alargado |
| 5 Cordiforme | 6 Cilíndrico |
| 7 Piriforme | 8 Elipsoide |
| 9 Otro | |

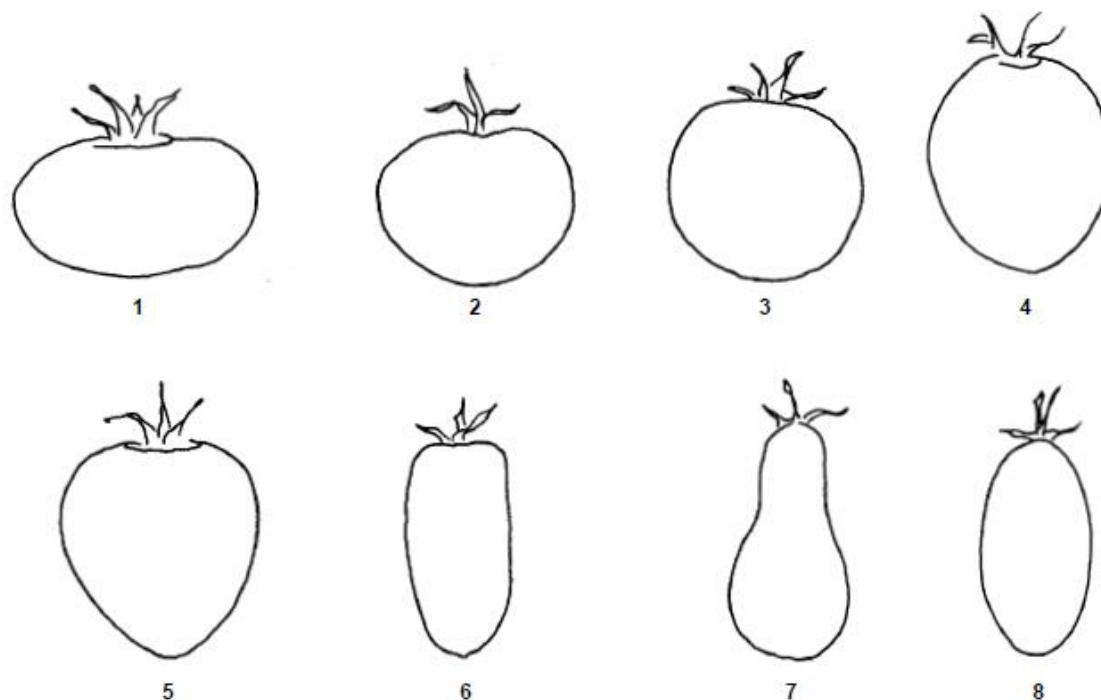


Figura 10. Formas del fruto de tomate según IPGRI.

Fuente: IPGRI, 1996.

3.4.30. Tamaño del fruto

Observado a la madurez:

1	Muy pequeño (<3 cm)	2	Pequeño (3-5 cm)
3	Intermedio (5.1-8 cm)	4	Grande (8.1-10 cm)
5	Muy grande (>10 cm)		

3.4.31. Homogeneidad del tamaño del fruto

3	Poca
5	Intermedia
7	Mucha

3.4.32. Peso del fruto (g)

El peso del fruto se realizó con el promedio de 10 frutos por planta utilizando una balanza electrónica.

3.4.33. Longitud del fruto (mm)

La medición se realizó desde la inserción del pedicelo hasta el ápice del fruto con la ayuda de un vernier.

3.4.34. Ancho del fruto (mm)

La medición se realizó en la parte transversal más ancha (diámetro) del fruto con la ayuda de un vernier.

3.4.35. Color exterior del fruto maduro

- | | |
|-----------|------------|
| 1 Verde | 2 Amarillo |
| 3 Naranja | 4 Rosado |
| 5 Rojo | 6 Otro |

3.4.36. Intensidad del color exterior

- 3 Poca
- 5 Intermedia
- 7 Mucha

3.4.37. Forma secundaria del fruto

- | | |
|--------------|------------------------|
| 1 Achatado | 2 Ligeramente achatado |
| 3 Redondeado | 4 Redondo-alargado |
| 5 Cordiforme | 6 Cilíndrico |
| 7 Piriforme | 8 Elipsoide |
| 9 Otro | |

3.4.38. Nervadura en el extremo del cáliz

- | | |
|--------------|----------|
| 1 Muy ligera | 3 Ligera |
| 5 Intermedia | 7 Fuerte |

3.4.39. Facilidad para separar el fruto del pedicelo

- 3 Poca
- 5 Intermedia
- 7 Mucha

3.4.40. Forma del hombro del fruto (Figura 11)

- | | |
|-------------------------|-----------------------|
| 1 Aplanada | 3 Ligeramente hundida |
| 5 Moderadamente hundida | 7 Muy hundida |



Figura 11. Forma del hombro del tomate según IPGRI.

Fuente: IPGRI, 1996.

3.4.41. Longitud del pedicelo (cm)

La medición se realizó desde el pedúnculo hasta el cáliz con la ayuda de un vernier calibrador.

3.4.42. Longitud del pedicelo desde la capa de la abscisión (cm) (Figura 12)

Medida desde la capa de abscisión hasta el cáliz utilizando un vernier calibrador.



Figura 12. Longitud de medición desde la capa de abscisión.

Fuente: IPGRI, 1996.

3.4.43. Presencia/ausencia de pedicelo sin unión

- 0 Ausente
- 1 Presente

3.4.44. Ancho de la cicatriz del pedicelo

Se midió en la parte más ancha con un vernier calibrador, tomando 10 frutos como promedio.

- 3 Angosto
- 5 Intermedio
- 7 Ancho

3.4.45. Tamaño de la zona corchosa alrededor de la cicatriz del pedicelo

Se midió en la parte más ancha con un vernier calibrador, tomando 10 frutos como promedio.

- 3 Pequeña
- 5 Intermedia
- 7 Grande

3.4.46. Facilidad para pelar el fruto (piel)

- 3 Poca
- 5 Intermedia
- 7 Mucha

3.4.47. Color de la piel del fruto maduro

Se realizó mediante la visualización como:

- 1 Incolora
- 2 Amarilla

3.4.48. Grosor de la piel del fruto (mm)

Se realizó la medición mediante un vernier calibrador

3.4.49. Grosor del pericarpio (mm)

Medido en una sección ecuatorial del fruto utilizando el vernier calibrador.

3.4.50. Color de la carne del pericarpio (interior)

- | | |
|-----------|------------|
| 1 Verde | 2 Amarillo |
| 3 Naranja | 4 Rosado |
| 5 Rojo | 6 Otro |

3.4.51. Intensidad del color de la carne

- | |
|--------------|
| 3 Poca |
| 5 Intermedia |
| 7 Mucha |

3.4.52. Color (intensidad) del corazón

- | | |
|----------|--------------|
| 1 Verde | 2 Blanco |
| 3 Claro | 5 Intermedio |
| 7 Oscuro | |

3.4.53. Forma del corte transversal del fruto (Figura 13)

- | |
|-------------|
| 1 Redonda |
| 2 Angular |
| 3 Irregular |

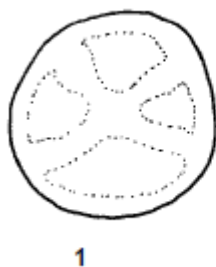


Figura 13. Forma del corte transversal del fruto según IPGRI.

Fuente: IPGRI, 1996.

3.4.54. Tamaño del corazón (cm)

Se midió en la parte más ancha del corazón de 10 frutos escogidos al azar, cortados transversalmente, utilizando un vernier.

3.4.55. Numero de lóculos

Se registró de 10 frutos de forma visual.

3.4.56. Forma de la cicatriz del pistilo (Figura 14)

- | | | | |
|---|----------|---|------------|
| 1 | Punteado | 2 | Estrellado |
| 3 | Lineal | 4 | Irregular |

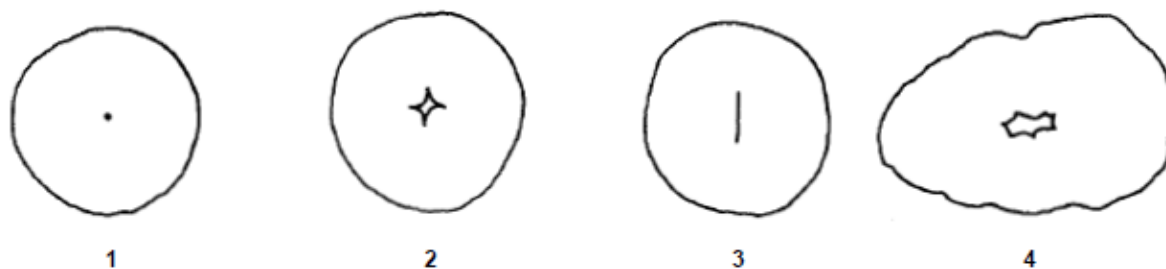


Figura 14. Formas de cicatriz según IPGRI.

Fuente: IPGRI, 1996.

3.4.57. Forma de terminal de la floración del fruto (Figura 15)

- 1 Indentada
- 2 Aplanada
- 3 Puntiaguda

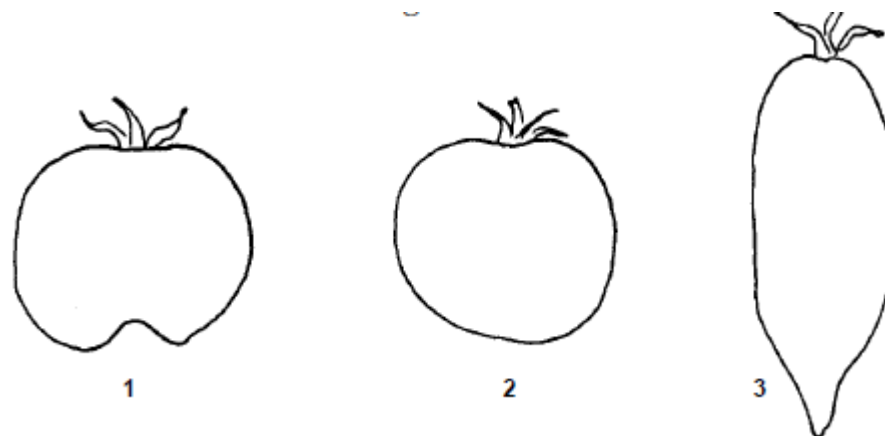


Figura 15. Forma terminal de la floración del fruto según IPGRI.

Fuente: IPGRI, 1996.

3.4.58. Condición de la cicatriz del terminal de la floración

- 1 Abierta
- 2 Cerrada
- 3 Ambas

3.4.59. Firmeza del fruto (después del almacenamiento)

Se registró utilizando la presión de los dedos donde se apretó el fruto de ambos lados.

- 3 Débil
- 5 Intermedia
- 7 Firme

Semilla

3.4.60. Forma de la semilla

- 1 Globular
- 2 Ovada
- 3 Triangular con la base puntiaguda

3.4.61. Peso de 1000 semillas (g)

Se pesó mil semillas con la ayuda de la balanza electrónica.

3.4.62. Color de la semilla

- | | | | |
|---|----------------|---|-----------------|
| 1 | Amarillo claro | 2 | Amarillo oscuro |
| 3 | Gris | 4 | Marrón |
| 5 | Marrón oscuro | | |

3.4.63. Porcentaje de germinación

Para el porcentaje de semilla se contaron 100 semillas de cada una de las accesiones de tomate, colocándolos en petri (con papel toalla previamente humedecido), seguidamente las cajas fueron trasladadas a la cámara de germinación (Figura 16).

Las evaluaciones fueron realizadas a los 5 y 14 días de colocadas las semillas en la cámara de germinación.

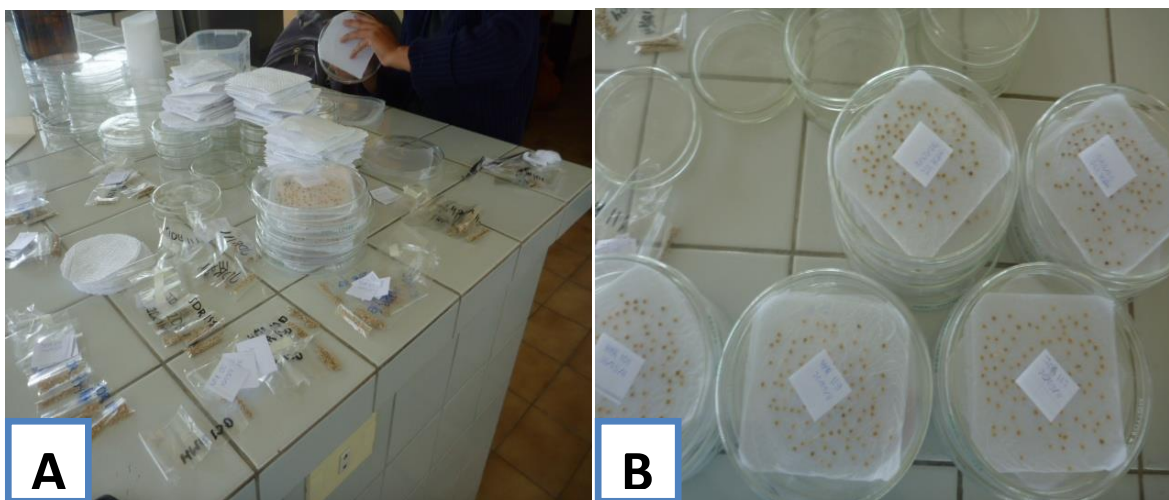


Figura 16. A. Preparación de las cajas Petri y las semillas para la germinación. B. Identificación de las accesiones.

Fuente: Elaboración propia

3.5. Metodología de análisis estadístico

Para el análisis estadístico se estructuró una matriz básica de datos, la cual se construyó a partir de la información que se obtuvo en la caracterización morfológica. El procedimiento utilizado para las variables cualitativas y cuantitativas fue el mismo, aplicándose los siguientes

estadísticos: estadística simple, análisis de componentes principales y análisis de conglomerados.

Estadísticos simples

Para describir el comportamiento de las 71 accesiones de tomate sometiendo a estadísticos simples: como la media, mínimo, máximo, desviación estándar y el coeficiente de variación. Estos deben realizarse antes de cualquier análisis multivariado, ya que proporcionan una idea general de la variabilidad del germoplasma y permiten detectar datos no esperados (Franco e Hidalgo, 2003).

Análisis de Componentes Principales

Desde el punto analítico, este método se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. Los componentes deben ser interpretados independientemente unos de otros, ya que contienen una parte de la varianza que no está expresada en otro componente principal (Pla, 1986; López e Hidalgo, 1994a). Además de reducir la dimensionalidad del problema que se está estudiando. También puede eliminarse algunas variables originales que aportan poca información. El análisis se realizó utilizando el programa SAS 9.1.

Análisis de Conglomerados

La agrupación se realizó según características similares, para así determinar cuáles de las accesiones o grupos tienen características similares y tienden a formar grupos uniformes, pero con variabilidad frente a otros grupos.

Las variables cuantitativas seleccionadas con el análisis de CP fueron analizadas con el método de Ward's. El método de Ward's se refiere a la distancia entre dos grupos que es la suma de cuadrados de varianza entre dos grupos adicionando el de todas las variables (SAS, 2004).

3.6. Caracterización molecular

La caracterización molecular se realizó en el ICRISAT con la colaboración del centro de semillas forestales de BASFOR ubicado en Tirani.

3.6.1. Recolección de muestras

De las cinco plantas por accesión se recolectó un promedio de 2 a 3 hojas (Figura 17) cercanas al ápice de crecimiento esta recolección se realizó en bolsas plásticas debidamente identificadas con el código de cada accesión, donde estas muestras se guardó en un refrigerador a -20°C .

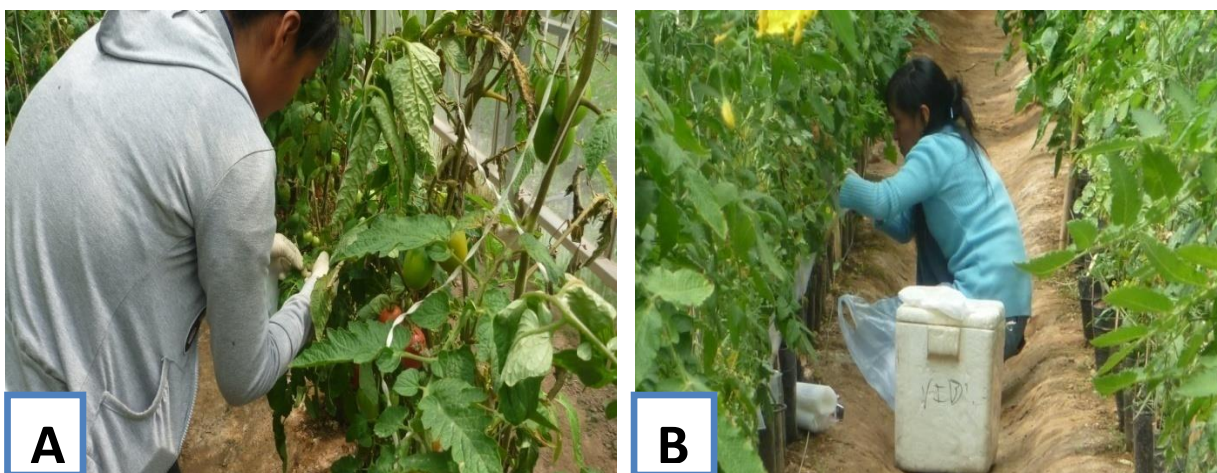


Figura 17. A. Recolección de las muestras (hojas de tomate). B. Etiquetado de las muestras en una conservadora.

Fuente: Elaboración propia

Las muestras recolectadas se molieron con nitrógeno líquido en morteros pre-enfriados hasta que sea un polvo fino que a la vez este se guardó en frascos de plástico identificados con los códigos de cada accesión.

Así la extracción de ADN siguiendo el protocolo de Doyle and Doyle (1990), seguido la amplificación y visualización de los microsatélites, los 13 primers que se utilizaron fueron: m13-LEVCOH15_F, m13-SSR318_N, m13-SSR333_N, m13-SSR349A_P, m13-SSR383_P,

m13-SSR47_F, m13-SSR63_V, m13-SSR96_F, m13-TOM152_N, m13-TOM184_V, m13-TOM188_V, m13-TOM236_P y m13-TOM49_F.

3.7. Procesamiento de datos y análisis estadístico

Con los datos obtenidos se realizó una matriz binaria de acuerdo a la ausencia (cero) y presencia (uno) de bandas de las accesiones para cada uno de los microsátélites, utilizando el Excel.

Seguidamente con la matriz binaria y los 13 microsátélites se realizó las estimaciones de similitud según el algoritmo de Jaccard. Con la matriz se realizó el análisis de coordenadas principales y el análisis de clúster para formar el dendograma, todos estos análisis se realizaron usando el programa de NT-SYS.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de datos morfológicos

Se caracterizó las 71 accesiones de tomate de acuerdo a los descriptores del IPGRI de tomate.

Características cuantitativas

Las variables descriptivas en la etapa de almácigo (Cuadro 5), muestran que la longitud de la hoja primaria en las accesiones bajo estudio tiene una media promedio de 21,21 mm, una desviación de 4,13 mm la misma que varía entre 9,97 a 31,63 mm. Así mismo, el ancho de la hoja primaria de las accesiones del ensayo presenta una media promedio de 6,38 mm y una desviación de 0,96 que varía entre 2,56 a 8,39 mm.

Las características evaluadas en la etapa de flor (Cuadro 5), muestran que la longitud del pétalo presenta una media promedio de 10,51 mm con ella una desviación de 1,40 mm y una variación entre 8,05 mm a 15,21 mm. La longitud del sépalo tiene una media promedio de 7,56 mm, una desviación de 1,83 mm y varía entre 4,44 a 16,85 mm. La longitud del estambre tiene una media promedio de 7,24 mm, una desviación de 0,66 mm y una variación de 6,08 a 9,19 mm.

Asimismo, las variables en la etapa de fruto (Cuadro 5), el peso del fruto presenta una media de 12,31 g una desviación de 12,46 g, con un intervalo desde 0,61 a 77.9 g. La longitud del fruto tiene una media de 24,79 mm, una desviación de 7,20 mm, la misma que varía de 9,95 a 49,66 mm. El ancho del fruto presenta un promedio de 25,99 mm, una desviación de 7,02 mm y una variación entre 10,06 a 52,73 mm. El grosor del pericarpio presenta una media de 2,72 mm., con una desviación estándar de 1.27 mm, la misma que varía entre 0,84 a 6,93 mm. El diámetro del corazón desarrolló 0,98 cm como promedio, una desviación estándar de 0,44 cm y una variación de 0,16 a 2,72 cm. El grosor de la piel del fruto tiene una media promedio de 0,04 mm, una desviación de 0,01 mm y una variación de 0,01 a 0,08 mm. La longitud del pedicelo presenta una media de 2,34 cm, una desviación de 0,36 cm y una variación de 1,84 a 3,54 cm. La longitud del pedicelo desde la capa de abscisión presenta una media de 0,81cm, una desviación de 0,19 cm y una variación de 0,52 a 1,70 cm. Asimismo, las

accesiones presentan 2,41 lóculos como promedio con una desviación estándar de 0,55 lóculos; sin embargo, varían desde 2 a 4 lóculos por fruto (Cuadro 7).

Cuadro 7. Estadísticos simples de los caracteres cuantitativos en las 71 accesiones de tomate

Variable	N°	Media	Des. Tip.	Mínimo	Máximo
Longitud de la hoja primaria (mm)	71	21,21	4,13	9,97	31,63
Ancho de la hoja primaria (mm)	71	6,38	0,96	2,56	8,39
Longitud del pétalo (mm)	71	10,51	1,40	8,05	15,21
Longitud del sépalo (mm)	71	7,56	1,83	4,44	16,85
Peso del fruto (g)	71	12,31	12,46	0,61	77,90
Longitud del fruto (mm)	71	24,79	7,20	9,95	49,66
Ancho del fruto (mm)	71	25,99	7,02	10,06	52,73
Longitud del estambre (mm)	71	7,24	0,66	6,08	9,19
Longitud del pedicelo (cm)	71	2,34	0,36	1,84	3,54
Longitud del pedicelo desde la capa de abscisión (cm)	71	0,81	0,19	0,52	1,70
Grosor de la piel del fruto (mm)	71	0,04	0,01	0,01	0,08
Grosor del pericarpio (mm)	71	2,72	1,27	0,84	6,93
Tamaño del corazón (cm)	71	0,98	0,44	0,16	2,72
Numero de lóculos	71	2,41	0,55	2	4
Peso de 1000 semillas (g)	71	2,54	0,62	0,96	4,80

Fuente: Elaboración propia

También se da variables descriptivas en la etapa de semilla; en este caso muestra solo el peso de 1000 semillas las accesiones bajo estudio desarrollaron 2,54 g como media promedio, con una desviación estándar de 0,62 g y con una variación que oscila de 0,96 a 4,80 g (Cuadro 7).

Análisis de Componentes Principales (ACP)

A través del análisis de componentes principales se puede observar, que más del 75,13% de la variación total es explicada por los 3 primeros componentes principales (Figura 18).

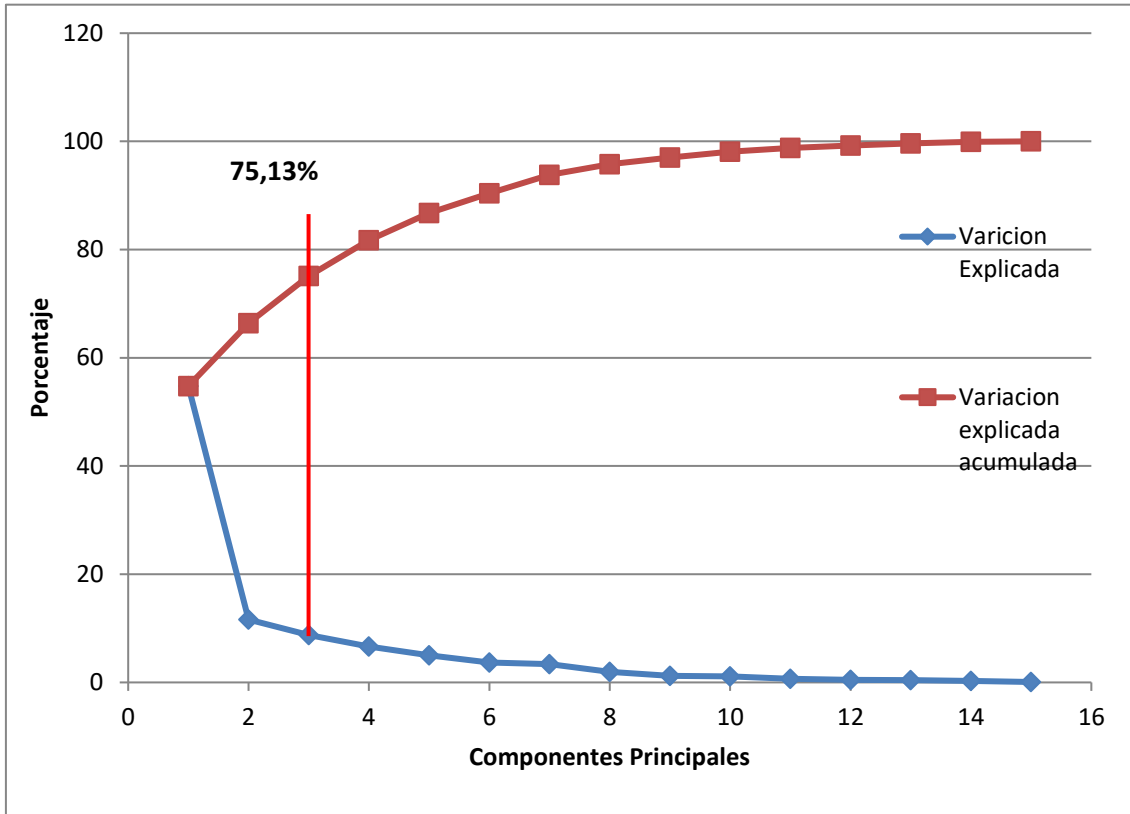


Figura 18. Variación explicada de 15 componentes principales.

Fuente: Elaboración propia

El primer componente principal explica el 54,77%, mientras que el segundo componente es de 11,61 (Cuadro 8).

Cuadro 8. Proporción explicada por los componentes principales

CP	Variación Explicada	Variación explicada acumulada
1	54,77	54,77
2	11,61	66,37
3	8,76	75,13
4	6,62	81,75
5	5,03	86,78
6	3,66	90,43
7	3,4	93,83
8	1,93	95,76
9	1,22	96,99
10	1,11	98,1
11	0,68	98,77
12	0,47	99,24
13	0,4	99,64
14	0,27	99,92
15	0,08	100

Fuente: Elaboración propia

El primer componente principal explica el 54,77% de la variación total, los caracteres que lo expresan son: peso del fruto (g), longitud del fruto (mm), ancho del fruto (mm), longitud del pedicelo desde la capa de abscisión (cm), grosor del pericarpio (mm), tamaño del corazón (cm) y peso de 1000 semillas (g), esto significa que esta mas relacionado con el fruto y la semilla (Cuadro 9).

El segundo componente principal explica 11,61% de la variación total, los caracteres que lo expresan son: longitud del sépalo (mm), longitud del estambre (mm), grosor de la piel del fruto (mm) y el número de lóculo (Cuadro 9).

El tercer componente principal explica el 8,76% de la variación total, los caracteres son: longitud de la hoja primaria (mm), ancho de la hoja primaria (mm), longitud pedicelo (cm) y longitud del pétalo (mm) (Cuadro 9).

Cuadro 9. Variables explicadas por cada componente principal.

Variables	Componente Principal			
	Prin1	Prin2	Prin3	Total
Longitud de la hoja primaria (mm)	23,36	32,60	42,53	98,51
Ancho de la hoja primaria (mm)	19,09	36,58	45,52	100,00
Longitud del sépalo (mm)	23,35	40,21	20,08	83,66
Longitud del estambre (mm)	19,90	35,46	13,66	69,02
Peso del fruto (g)	32,16	0,64	17,24	50,06
Longitud del fruto (mm)	32,13	11,44	14,81	58,39
Ancho del fruto (mm)	33,08	4,83	11,78	49,70
Longitud pedicelo (cm)	24,37	2,00	32,54	58,92
Longitud pétalo (mm)	17,59	31,10	52,61	100,00
Longitud del pedicelo desde la capa de abscisión (cm)	23,43	19,06	22,25	64,75
Grosor del pericarpio (mm)	32,09	12,38	10,69	55,18
Tamaño del corazón (cm)	32,77	0,71	16,58	50,07
Grosor de la piel del fruto (mm)	22,35	30,01	6,65	59,02
Numero de lóculos	8,18	46,67	9,67	64,53
Peso de 1000 semillas (g)	29,36	0,38	4,63	34,38

Fuente: Elaboración propia

Análisis de conglomerados (Clúster)

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de clúster las 71 accesiones de tomate pueden agruparse en 3 grupos, el primer grupo está compuesto por 58 accesiones, donde se caracterizan por el peso debido a que presentan pesos livianos que oscilan menor a 10.4g., otra de las características es el número de lóculos que es de 2, esas accesiones son: 153, 152, 154, 140, 134, 137, 158, 132, 149, 151, 133, 135, 171, 145, 147, 165, 139, 175, 197, 146, 167, 182, 136, 148, 195, 196, 138, 141, 208, 194, 176, 126, 127, 173, 155, 157, 164, 159, 160, 161, 163, 186, 118, 172, 181, 119, 120, 125, 130, 128, 129, 156, 202, 113, 179, 180, 192

y el 193 (Figura 19). Según Nuez *et al.*, (2001), Peralta *et al.*, (2008), Rick (1976), sostienen que las especies *S. lycopersicum*, *S. habrochaites* S., *S. pimpinellifolium* S. *chmielewskii*, *S. pennelli*, *S. peruvianum*, *S. chilense*, *S. neorickii* O. M., se caracterizan por presentar frutos biloculados, por lo que este grupo podría pertenecer a estas especies.

En el segundo grupo está compuesto por 2 accesiones, las características más sobresalientes que presentan es en la etapa de almacigo es la longitud y ancho de la hoja primaria, también la longitud del pedicelo y la longitud desde la capa de abscisión al igual que el grosor del pericarpio esto los hace frutos más carnosos, estas accesiones de tomate son: el 124 y el 187 (Figura 19).

En el tercer grupo está compuesto por 11 accesiones, las cuales se caracterizan principalmente por la longitud y el ancho del fruto, además del tamaño del corazón estas accesiones de tomate son: 189, 183, 188, 174, 200, 201, 185, 191, 190, 203 y el 184 (Figura 19).

Según Eroski (2010), los frutos de *S. lycopersicum* L., difieren entre 80 y 300gr de peso y según Nuez *et al.*, 2001 sostiene que la especie *S. lycopersicum* L. presenta un mayor grosor de pericarpio, que las otras especies del género *Lycopersicon* y el peso de 1000 semillas oscila entre 2.5 a 3 g. Estos resultados indican que el segundo y tercer grupo podrían pertenecer a esta especie.

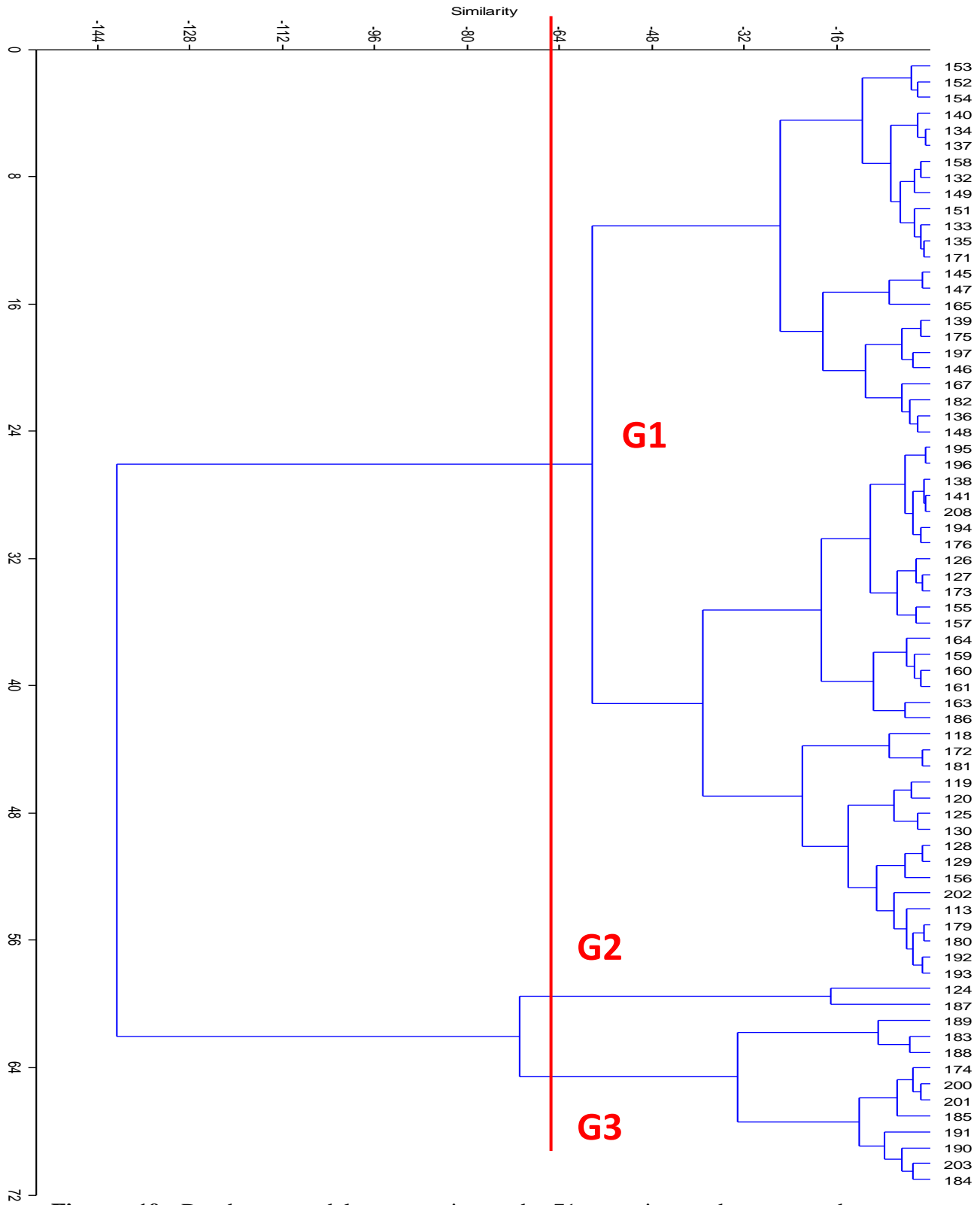


Figura 19. Dendrograma del agrupamiento de 71 accesiones de tomate de caracteres cuantitativos.

Fuente: Elaboración propia

4.2. Análisis de datos moleculares

Número y frecuencia de alelos encontrados

El número de alelos generados por los 13 marcadores microsatélites, fue de 5 a 14, por lo que dio un total de 73 alelos encontrados. El microsatélite con mayor número de alelos fue m13-TOM236_P que fue de 14 alelos, y el menor número de alelos fue de 3 alelos para los microsatélites, m13-SSR349A_P, m13-SSR383_P, m13-SSR96_F y m13-TOM184_V.

Con la ayuda de estos microsatélites se observa la diferencia que hay de las otras accesiones debido a los patrones específicos de alelos que se encontró en cada una de ellas sean homocigotos o heterocigotos.

Análisis de conglomerados

Con los datos obtenidos se construyó matrices binarias, accesiones para cada marcador. La matriz indica la presencia del alelo con 1 y la ausencia de alelo con 0. A partir de la matriz se calcularon los valores de similitud utilizando el coeficiente de Jaccard. Estas matrices nos indican las diferencias existentes entre las accesiones.

Se construyo el dendograma mediante el método de ligamento promedio UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) mediante este método se agruparon las 71 accesiones de tomate como se puede observare en la figura 20.

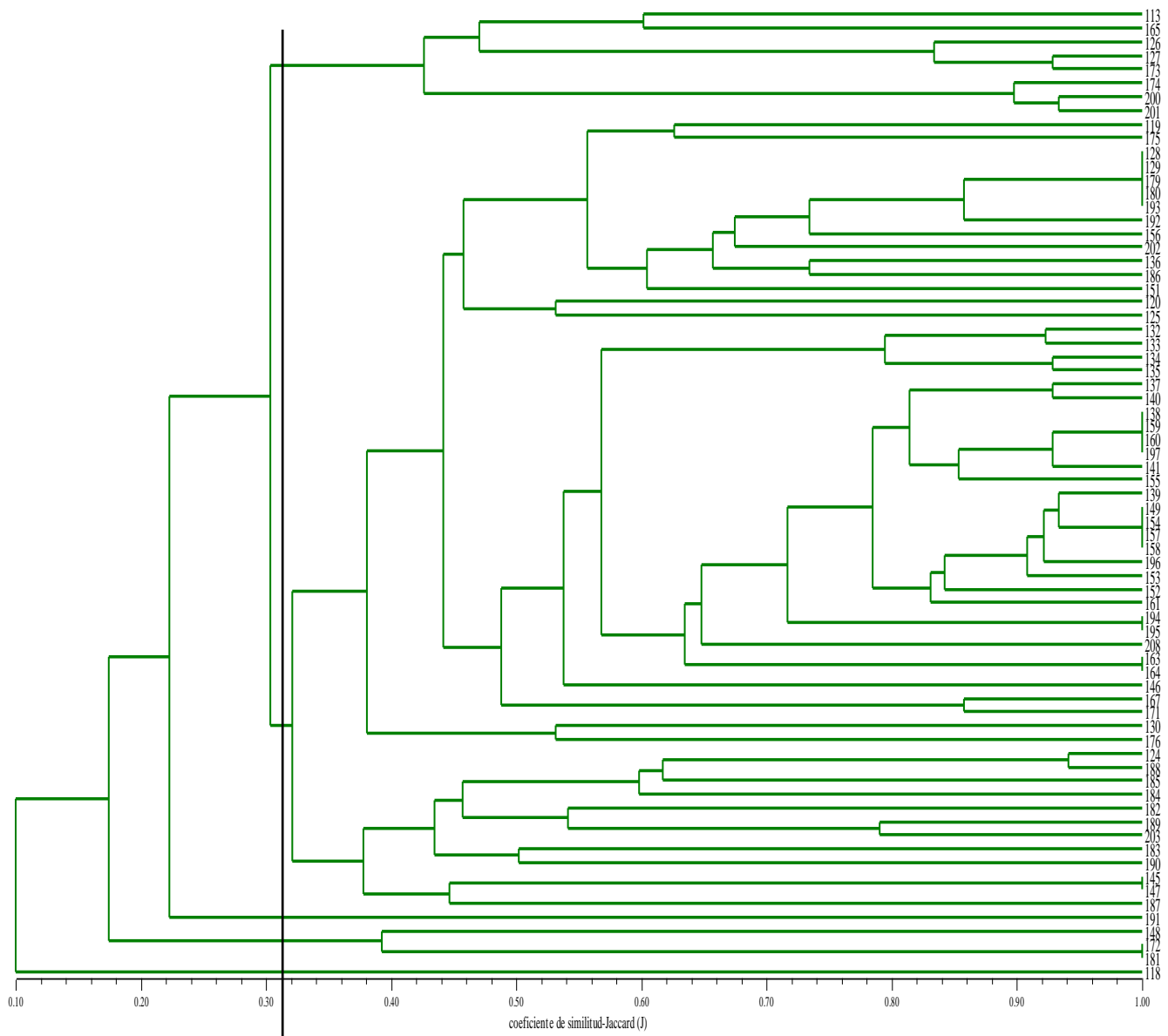


Figura 20. Dendrograma de las 71 accesiones de tomate analizadas con los 13 marcadores microsatélites.

Fuente: Elaboración propia

La accesión 118 se ve como completamente se aleja de los demás grupos según Grain (1998), la especie *S. pimpinellifolium* que presenta frutos comestibles y la planta tiene menos pelos que otros tomates silvestres, pero más pequeño que el tomate de cultivo (1cm de diámetro), considerando estas características se podría decir que pertenece a esta especie *S. pimpinellifolium*.

Los demás grupos Según D'Arcy (2001), la especie *S. lycopersicum* L. presentan frutos de color rojo, amarillos y rosados debido a que son frutos comestibles, esta característica que coinciden con la coloración de la piel del fruto como amarilla, los otros grupos podrían pertenecer a esta especie, esto podría mostrar que esta especie tiene una amplia diversidad.

Podemos observar que existen unos 7 grupos que podrían ser duplicados, esto debido a que se utilizaron una gran cantidad de iniciadores.

Análisis de coordenadas principales

Se realizó el análisis utilizando el coeficiente de Jaccard que se calculó con el programa estadístico de NTSYS Versión 2.10.

En la figura 21 se puede observar la separación de cinco grupos a simple vista, sobresaliendo además la dispersión de algunas accesiones, es similar a la que se observó en el análisis de conglomerados

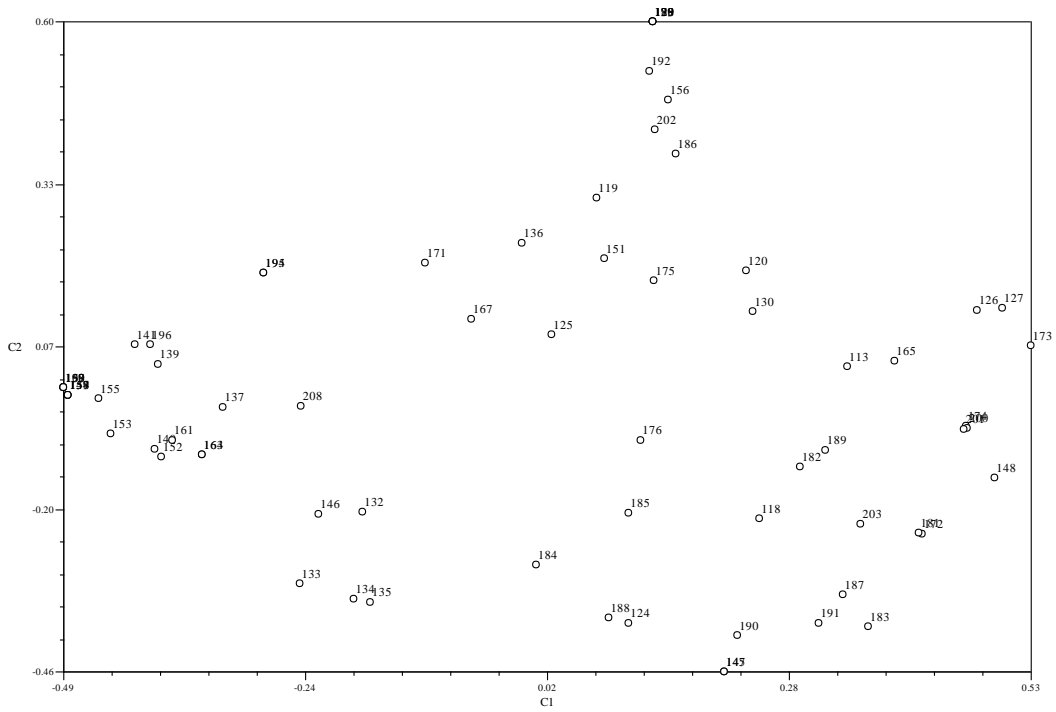


Figura 21. Análisis de coordenadas principales de las 71 accesiones analizadas con los 13 microsátelites

Fuente: Elaboración propia

V. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados y los resultados obtenidos se concluye que:

- El banco de germoplasma muestra una variabilidad morfológica significativa entre las 71 accesiones de tomate por lo que se rechaza la hipótesis nula.
- Mediante el análisis de componentes principales el 75.13 % de la variabilidad está explicado por los tres primeros componentes principales, los cuales están relacionados. El primer componente principal está relacionado con el fruto peso, tamaño y el peso de semillas y explica el 54.77% de la variación morfológica total.
- El análisis de conglomerados mostro tres grupos diferentes el primer grupo compuesto por 58 accesiones se caracteriza por pesos livianos, el segundo grupo compuesto por 2 accesiones se caracteriza por la etapa de almacigo y el tercer grupo compuesto por 11 accesiones se caracteriza por el tamaño del fruto.
- Las 71 accesiones de tomate si muestra una variabilidad molecular, debido al análisis realizado se mostró cinco grupos diferentes, del cual una accesión es de la especie *S. pimpinellifolium*, esto debido a las características que presento.
- El análisis de conglomerados muestra una agrupación, con aproximadamente 7 grupos que podrían ser duplicados, esto se logró debido a la buena cantidad de iniciadores que se utilizaron.
- Se puede observar que la morfológica y la molecular presentan diferentes resultados esto puede deberse a la cantidad de iniciadores que se utilice puede haber una mejor variabilidad y diferenciación de las demás.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadie, T. y Berretta, A. 2001. Caracterización y evaluación de recursos fitogenéticos. En: Estrategia en recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur. PROCISUR, e IICA. Pg 89-97. Montevideo, Uruguay. <http://www.procisur.org.uy/data/documentos/21.pdf>. Consulta: Marzo 2011.
- Aranguren-Méndez, J.A.; Román-Bravo, R.; Isea, W.; Villasmil, Y.; Jordana, J. 2005. Los microsatélites (SSR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 2005. 13(1): 30-42.
- Azofeita Delgado, A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas, aplicaciones en frutales del trópico. FCA, Universidad de Costa Rica. Disponible en [www.eefb.ucr.ac.cr/.../Agronomia Mesoamericana/Vol.%2017\(2\)%202006/rev_bibliografia/Azofeita-marcadores.pdf](http://www.eefb.ucr.ac.cr/.../Agronomia%20Mesoamericana/Vol.%2017(2)%202006/rev_bibliografia/Azofeita-marcadores.pdf).
- Bacchetta, G., Bueno, Sánchez A., Fenu, G., Jiménez-Alfaro, B., Mattana, E., Piotto, B. & Virevaire, M. 2008. Conservación *ex situ* de plantas silvestres. Principado de Asturias / La Caixa. 24p.
- Brush, S.B. 2000. The issues of *in situ* conservation of crop genetic resources: Brush SB, (ed.), Genes in the Field. On-Farm Conservation of Crop Diversity, IPGRI, IDRC, Lewis Publishers. Pp. 3-26.
- Casas, S. J., Ramírez D. J., Sánchez, G. J., Ron, P. J., Montes, H. S., y Chuela, B. M. 2003. Características agronómicas en retrocruzamientos en maíz-tocintle. En: Rev Fitotec. México, Vol. 26 (4): 239-248.
- Chambers, G. K., y MacAvoy, E. S. 2000. Microsatellites consensus and controversy. Comparative Biochemistry and physiology. Part B. 126: pp455-476
- Charafi, J., El Meziane, A., Moukhli, A., Boulouha, B., El Modafar, C., y Khadari, B. 2008. Menara gardens: a Moroccan olive germplasm collection identified by a SSR locus-based genetic study. 55(6): Pp 893-900.

- De Vicente, M. C. ; Fulton, T. 2004. Tecnologías de marcadores moleculares para estudios de diversidad genética en plantas; módulo de aprendizaje. Ilus. Nelly Giraldo. Roma, Italia. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI)- Instituto para la Diversidad Genómica (IGD), Cornell, Ithaca, NY. Disponible en:
http://www.bioversityinternational.org/Information_Sources/Training_Modules/Molecular_Markers/index.asp
- D'Arcy, W., 2001. Solanaceae. En: W. D. Stevens, C. Ulloa U., A. Pool y O. M. Montiel (eds.). Flora de Nicaragua. Monographs in Systematic Botany from de Missouri Botanical Garden. Vol. 85, Tomo III. St. Louis, Missouri.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15p.
- Dunn, G., y Everitt, B.S. 2004. An introduction to mathematical taxonomy. 1 Ed. New York, USA. Dover publication, Inc. 147p.
- Eroski Consumer. 2010. Guía de hortalizas y verduras disponible en:
<http://verduras.consumer.es/documentos/hortalizas/tomate/intro.php>
- Escalona, V., Alvarado, P., Monardes, H., Urbina, C., y Martin, A. 2009. Manual de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.).
- Esquinas- Alcázar, J.T. 1993. La diversidad genética como material básico para el desarrollo agrícola. En: La agricultura del Siglo XXI. J.I. Cubero y M.T. Moreno (coord.). Mundi-Prensa, Madrid. 79-102p.
- Faith, P., Ferrier, S., y Williams, J., 2008. Getting biodiversity intactness indices right: ensuring that 'biodiversity' reflects 'diversity'. Global Change Biology 14(2): p 207–217.
- Fao. 1999. Recursos Fitogenéticos Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 46 p.
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Brasilia D. F., Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento

- (MA), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnología (CENARGEN). 229 p.
- Firbank, L.G. 2005. Striking a new balance between agricultural production and biodiversity. 146(2):p. 163-175.
- Florido, M., Álvarez, M., Lara, R., Plana, D., Varela, M., Shagarodsky T., y Moya, C. 2002. Caracterización morfoagronómica y bioquímica de 20 accesiones de tomate (*Lycopersicon* spp). Cultivos Tropicales vol. 23, no. 4. La Habana, Cuba p.61-69
- Franco, T.L., e Hidalgo, R. 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. 89 p.
- Frankel O.H., y Soule M.E. 1992. Conservation and Evolution. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 237p
- García, J.A., Duque, M.C., Tohme, J., Xu, S., y Levy, M. 1995. SAS for Classification Analysis; Agrobiotechnology Course. Documento de Trabajo. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. http://www.ipgri.cgiar.org/Training/Unit101/MolMarkers_es/PDF/VOL1/IV.4.STS.pdf
- Garzón, R. J. 2011. Caracterización y evaluación morfoagronómica de la colección de tomate tipo cherry de la universidad nacional de Colombia sede Palmira. Colombia. 19-20p.
- Gauch, H.G., Jr. 1982. Multivariate Analysis and Community Structure. Cambridge University Press, Reino Unido. Disponible en: http://www.ipgri.cgiar.org/Training/Unit101/MolMarkers_es/PDF/VOL1/IV.4.STS.pdf
- Grain (Genetic Resources Action International). 1998. Diversidad y sustento de Culturas- Los tomates: el mundo los aprecia y las multinacionales los codician artículo publicado en internet. Disponible en: <http://www.grain.org/about/?org&es>
- Hair, J. F.; Anderson, R. E.; Tatham, R. L.; Black, W. C. 1992. Multivariate data analysis. MacMillan Publ. Co. Nueva York. 544 p.

- Harvey, A., Komar, O., Chazdon, R., Ferguson, G., Finegan, B., Griffith, M., Martinez-Ramos M., Morales, H., Nigh, R., Soto-Pinto, L., Van Breugel, M., y Wishnie, M. 2008. Integrating Agricultural Landscapes with Biodiversity Conservation in the Mesoamerican Hotspot. : p 8–15.
- Hintum T.J. van. 1995. Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants in Hodgkin, T, Brown, AHD, Hintum, T.J. van, Morales, EAV (eds) Core Collections of plant genetic resources pp23-34. John Wiley and sons. New York. p 45
- [Http://faostat.fao.org](http://faostat.fao.org): Consulta de bases de datos de producción mundial y comercio internacional de Tomate.
- Hu, X., Wang H., Chen J., and Yang W., 2010. Genetic diversity of Argentina tomato varieties revealed by morphological traits, simple sequence repeat, and single nucleotide polymorphism markers Department of Vegetable Science, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, No. 2. Beijing-China 485p
- Ibitoye D.O., Akin-Idowu P.E., y Ademoyegun O.T. 2009. Agronomic and Lycopene Evaluation in Tomato (*Lycopersicum* Mill.) As a Function of Genotype. P 1817-3047.
- International Plant Genetic Resources Institute. 1996. Descriptores de tomate. www.corpoica.gov.co/SitioWeb/.../DESCRIPTORES-IBPRI-TOMATE.pdf
- Jaramillo, S. y M. Baena. 2000. Material de apoyo a la capacitación en conservación ex situ de recursos fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia.
- Kessler, J. J. 2008. Agro-Commodity Production Systems. P 283-306.
- Larry, R. y Joanne, L. 2007. Genetic resources of tomato. In: Genetic improvement of solanaceous crops-Razdan MK, Mattoo AK, eds. 2. Enfield, NH: Science Publishers. *Tomato*.

- Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., y Mroginski, L. 2010. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. II Edición. INTA. Argentina 73p.
- López, J.A. e Hidalgo, M. D. 1994a. Análisis de componentes principales y análisis factorial. En: Alto, M. y López, J. J. (eds.). Fundamentos de estadística con Systat. Addison Wesley Iberoamericana. 457-503p.
- López J.A. e Hidalgo M.D. 1994b. Análisis de conglomerados. En: Ato, M. y López, J. J. (eds.). Fundamentos de estadística con Systat. Addison Wesley Iberoamericana. 505-532p.
- Luque, J.; Herráez, A. 2002. Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética; conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud. Madrid, España. Ed. MMI Elsevier Science España S.A. 488 p.
- Manrique, A. 1989. Conservación de recursos fitogenéticos: Utilización de recursos vegetales genéticos para América del Sur. La Molina. Lima, Perú. 57p.
- Maxted, N., Guarino, L., Myer, L., Chiwona, E.A. 2002. Towards a methodology for on-farm conservation of plant genetic resources.49(1): 31–46p.
- Maxted, N., K. Painting y L. Guarino. 1997. Ecogeographic surveys. Material de capacitación. International Plant Genetic Resources Institute, Italia. 54p.
<http://www.cgiar.org/ipgri/TRAINING/5-2/index.htm>
- Mukandama, J. P.; Peteira, B; González, M. C. 2004. Empleo de marcadores rapd para el análisis de la variabilidad genética en genotipos de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill.). Cultivos Tropicales, vol. 25, núm. 3, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba. pp.63-66
- Nuez, F. 2001. El Cultivo del Tomate. Primera edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid-España. 32p.

- Peralta, I. E.; Spooner, D. M. 2007. History, origin and early cultivation of tomato (*Solanaceae*). In: Genetic improvement of solanaceous crops - Razdan MK, Mattoo AK. eds. 2. Enfield, NH: Science Publishers. 1–27p.
- Peralta, I.; Spooner, D.; Knapp, S.; 2008. Taxonomy of Wild Tomatoes and their Relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; *Solanaceae*) Editorial Committee. EUA. 30-36p
- Pérez, R.M. 2010. Mejoramiento genético en tomate (*Solanum lycopersicum*) para la resistencia al pasador del fruto (*Neoleucinodes elegantalis*)guenée (*Lepidóptera crambidae*) Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agropecuarias. Coordinacion General de Postgrado Palmira. 19-22p.
- Perrino P. y Terzi M. 2003. Importanza della conservazione del germoplasma. Bressan M., Magliaretta L. & Pino S. (eds). *Cereali del Veneto*. Regione Veneto/Prov. Di Vicenza/Veneto Agricoltura.
- Phillips, W.; Rodríguez, H.; Fritz, P. 1995. Marcadores de ADN: Teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo con ejemplos de investigaciones en cacao (*Theobroma cacao*). Serie técnica. Informe técnico # 252. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 183 p.
- Piñero, D., Caballero, J., Cabrera, D., Canteros, C., Casas, A. 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México. 438p.
- Pla, L. E. 1986. Análisis multivariado: Método de componentes principales. Secretaría de la Organización de Estados Americanos (OEA). Washington, D.C. 94 p.
- Powel, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., Rafalski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germoplasm análisis. *Mol Breed* 2:225-238.

- Powell, W. 1992. Plant genomes, gene markers, and linkage maps. in: Moss, J. P. ed. Biotechnology and crop improvement in Asia. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. Patancheru, India. 297-322p.
- PROINPA (Fundación para la Promoción e Investigación de Productos Andinos). 2009. Curso semipresencial “Recursos Fitogenéticos, Riqueza estratégica para el desarrollo del país”. Modulo I. Cochabamba-Bolivia.
- Raffo A., La Malfa G., Fogliano V., Mainia G., Quaglia G. 2004. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). Journal of Food Composition and Analysis. 11-19p.
- Rallo, P.; Belaj, A.; De La Rosa, R.; Trujillo, I. 2002. Marcadores moleculares (en línea). Córdoba, España Disponible en http://www.extremadura21.com/caudal/hemeroteca/mayojunio_2000/almazara/almaz1.htm
- Rick. 1976. Tomato (family Solanaceae), in Evolution of Crop Plants (ed. N. W: Simmonds). Longman publ. pp. 268-273.
- Rojas, S.L. 2011. Determinación de la variabilidad morfológica de la colección de tomate (*Lycopersicon spp.*) existente en el banco de germoplasma de la FCAPFyV-UMSS y el CNPSH-INIAF
- Salas, L.A.2001. Perspectivas tecnológicas en el uso de germoplasma de papas nativas. Ministerio de Agricultura del Perú, Instituto Nacional de Investigación Agraria, INIA, Centro Internacional de la Papa, CIP. Agosto de 2001. 14p.
- Sarmiento, F.O. 2000. Diccionario de Ecología; paisajes, conservación y desarrollo sustentable para Latinoamérica. Quito, Ecuador y Athens. Georgia, EEUU. 514 p.
- SAS Institute Inc. 2004. Documentation for SAS, Version 8. <http://v8doc.sas.com./sashtml/>
- Schröder S, Begemann F, Harrer S. 2007. Agrobiodiversity monitoring-documentation at European level. 2(Supplement 1). 29–32p.

- Sevilla R., Holle M. 1995. Recursos Genéticos Vegetales. Universidad Nacional Agraria. La Molina, Perú. 208p.
- Stommel J.R., Abbott J.A., Saftner R.A. 2005. USDA 02L1058 and 02L1059: Cherry tomato breeding lines with high fruit β -carotene content. HortScience 40(5): 1569-1570p.
- Tanksley, S. 1983. Molecular markers in plant breeding. Plant Molecular Biology Reporter 1:3-8p
- Vallejo, C., Franco, A., Estrada, S. & E. I. 2002. Mejoramiento genético de plantas. Palmira: Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.
- Vallejo, C., Franco, A., Estrada, S., y E. I. 2004. Producción de hortalizas de clima cálido. Palmira: Universidad Nacional sede Palmira.
- Wilches A. 2004. Descripción de las herramientas moleculares y sus aplicaciones en la agricultura. Guatemala. 1-2p.
- Zaid, A.; Hughes, H. G.; Porceddu, E.; Nicholas, F. 2004. Glosario de biotecnología para la agricultura y la alimentación. Roma, Italia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. 523 p. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/004/y2775s/y2775s00.pdf>
- Zhang, D-X. 2004. Lepidopteran microsatellite DNA: redundant but promising. 507- 509

VII. ANEXOS

Accesiones de Tomate

GRUPO 1



GRUPO 2



GRUPO 3





Variables de las accesiones de tomate

Codigo	Color del hipocotilo	Inten. del color del hipocotilo	Pubescencia del hipocotilo	Long. de la hoja primar. (mm)	Ancho de la hoja primar. (mm)	Tipo de Crecim. de la planta	Tamaño de la planta	Densid. de pubes.del tallo	Long. del entrenudo del tallo	Densidad del follaje
	CH	ICH	PH	LHP	AHP	TCP	TP	DPT	LET	DF
113	Mor	Al	Pre	18,737	5,893	Ind	Gr	Es	Co	De
118	Mor	Int	Pre	12,583	5,482	Ind	Gr	De	Co	De
119	Mor	Int	Pre	22,679	6,798	Ind	Int	Int	Co	De
120	Mor	Al	Pre	22,564	6,439	Ind	Int	Int	Co	De
124	1/4 m	Int	Pre	28,002	7,961	Ind	Gr	Es	Co	Es
125	Mor	Al	Pre	22,282	6,140	Ind	Int	Int	Co	Int
126	Mor	Int	Pre	22,187	6,584	Ind	Gr	Es	Co	Int
127	Mor	Al	Pre	19,547	5,467	Ind	Gr	Es	Co	De
128	Mor	Al	Pre	18,953	5,864	Ind	Gr	Es	Co	De
129	Mor	Al	Pre	18,498	5,942	Ind	Gr	Es	Co	Int
130	1/4 m	Int	Pre	21,833	6,260	Ind	Gr	Int	Co	De
132	Mor	Al	Pre	22,307	7,118	Ind	Gr	Es	Int	De
133	1/4 m	Int	Pre	24,251	6,933	Ind	Gr	Es	Co	De
134	1/4 m	Al	Pre	21,939	6,636	Ind	Int	Es	Co	De
135	1/4 m	Al	Pre	24,701	6,234	Ind	Gr	Es	Co	De
136	1/4 m	Int	Pre	20,585	5,897	Ind	Gr	Es	Co	De
137	Mor	Al	Pre	21,296	6,246	Ind	Gr	Es	Co	De
138	Mor	Al	Pre	19,911	6,274	Ind	Gr	Es	Co	De
139	Mor	Al	Pre	18,217	5,863	Ind	Gr	Es	Co	De
140	Mor	Al	Pre	20,159	6,416	Ind	Gr	Es	Co	De
141	Mor	Al	Pre	19,865	6,294	Ind	Gr	Es	Co	De
145	Mor	Al	Pre	18,431	5,775	Ind	Gr	Es	Co	De
146	Mor	Al	Pre	16,334	4,862	Ind	Gr	Es	Co	De

147	Mor	Al	Pre	19,842	6,510	Ind	Gr	Es	Co	De
148	Mor	Int	Pre	19,391	6,589	Ind	Gr	Es	Co	De
149	1/4 m	Int	Pre	22,671	6,448	Ind	Gr	Es	Co	De
151	Mor	Int	Pre	23,451	7,401	Ind	Gr	Es	Co	De
152	Mor	Int	Pre	28,617	8,390	Ind	Gr	Es	Co	De
153	1/4 m	Int	Pre	28,231	8,118	Ind	Gr	Es	Co	De
154	Mor	Int	Pre	27,564	8,050	Ind	Gr	Es	Co	De
155	Mor	Al	Pre	22,362	6,705	Ind	Gr	Es	Co	De
156	1/4 m	Int	Pre	22,564	6,535	Ind	Gr	Int	Co	De
157	1/4 m	Int	Pre	24,434	7,106	Ind	Gr	Es	Co	De
158	1/4 m	Int	Pre	23,209	6,950	Ind	Gr	Es	Co	De
159	Mor	Al	Pre	16,433	5,935	Ind	Gr	Es	Co	De
160	Mor	Al	Pre	18,467	5,742	Ind	Gr	Es	Co	De
161	Mor	Int	Pre	17,529	6,086	Ind	Gr	Es	Co	De
163	Mor	Al	Pre	9,972	2,564	Ind	Gr	Es	Co	De
164	Mor	Al	Pre	15,683	4,143	Ind	Gr	Es	Co	De
165	1/4 m	Int	Pre	21,936	6,280	Ind	Int	Es	Co	Int
167	Mor	Al	Pre	22,400	6,330	Ind	Int	Es	Co	Int
171	Mor	Al	Pre	23,900	6,559	Ind	Gr	Es	Co	De
172	Mor	Al	Pre	15,004	4,903	Ind	Gr	Es	Co	De
173	1/4 m	Int	Pre	20,511	6,222	Ind	Gr	Es	Co	De
174	1/4 m	Int	Pre	24,397	6,531	Ind	Gr	Int	Co	De
175	Mor	Al	Pre	19,348	6,007	Ind	Int	Es	Co	Int
176	Mor	Int	Pre	18,945	5,921	Ind	Int	Es	Co	Int
179	Mor	Int	Pre	19,213	5,846	Ind	Gr	Es	Co	De
180	Mor	Int	Pre	18,944	5,729	Ind	Gr	Es	Co	De
181	Mor	Al	Pre	16,028	5,747	Ind	Int	Int	Co	De
182	Mor	Int	Pre	19,756	6,527	Ind	Gr	Int	Co	De
183	1/4 m	Ba	Pre	22,886	7,023	Ind	Gr	Es	La	Int

184	1/4 m	Ba	Pre	27,858	8,290	Ind	Gr	Es	La	Int
185	1/4 m	Int	Pre	28,662	7,897	Ind	Gr	Es	Int	Int
186	Mor	Al	Pre	13,451	4,469	Ind	Gr	Int	Co	Int
187	1/4 m	Int	Pre	26,581	7,454	Sem	Int	Int	Co	De
188	1/4 m	Int	Pre	25,998	6,428	Ind	Gr	Int	La	De
189	Mor	Int	Pre	21,708	6,635	Ind	Int	Int	Co	Int
190	1/4 m	Int	Pre	23,467	7,436	Ind	Gr	Es	Int	De
191	Mor	Al	Pre	31,634	6,950	Ind	Int	Es	Co	De
192	Mor	Al	Pre	17,596	5,408	Ind	Pe	Es	Co	De
193	Mor	Al	Pre	16,431	5,153	Ind	Gr	Int	Co	De
194	Mor	Int	Pre	18,322	6,084	Ind	Gr	Int	Co	De
195	Mor	Int	Pre	21,639	6,516	Ind	Gr	Es	Co	De
196	Mor	Int	Pre	21,593	6,708	Ind	Int	Es	Co	De
197	Mor	Al	Pre	19,212	6,632	Ind	Int	Es	Co	De
200	1/4 m	Al	Pre	26,976	7,445	Ind	Int	Es	Co	Int
201	1/4 m	Al	Pre	26,259	7,006	Ind	Int	Es	Co	De
202	1/4 m	Al	Pre	14,578	5,671	Ind	Gr	Int	Co	De
203	1/4 m	Int	Pre	24,592	7,604	Ind	Gr	Es	Int	De
208	Mor	Al	Pre	19,462	6,769	Ind	Gr	Es	Co	De