

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA EN TOMATE (*Solanum* L. SECCIÓN *Lycopersicon* SUBSECCIÓN *Lycopersicon*) UTILIZANDO AFLP

Marilyn Florido[✉], A. Arencibia, Dagmara Plana, Marta Alvarez, J. López y Regla M. Lara

ABSTRACT. The wild tomato species are a rich source of useful genes for germplasm improvement to biotic and abiotic stresses. For this reason, the present work was aimed to estimate by AFLP analysis the genetic diversity existing in a representative sample of *ex situ* Cuban tomato germplasm including local varieties, commercial varieties and *S. lycopersicum* var. *Cerasiforme*, *S. pimpinellifolium*, *S. habrochaites*, *S. pennellii* and *S. peruvianum* wild species. Interrelationships between the different accessions were estimated after AFLP fingerprinting using MseI/PstI enzyme combinations and a number of selective primer pairs. Genotyping was determined as presence or absence of bands in each accession using the UPGMA cluster analysis and processed by NTSYS-pc software. The five AFLP primer combinations produced 305 amplification products with 69 polymorphic bands (22.6 %) will be associated to different patterns of *S. peruvianum*, *S. pennellii* and *S. habrochaites* wild tomato shows a relatively low level of polymorphism among tomato accessions.

RESUMEN. Las especies silvestres de tomate constituyen una fuente de genes útiles en el mejoramiento genético para la resistencia a estrés biótico y abiótico. Es por ello que se desarrolló el presente trabajo, para detectar por análisis de AFLP la diversidad genética existente en una muestra representativa del germoplasma de tomate (*Solanum* L. sección *Lycopersicon* subsección *Lycopersicon*) conservado *ex situ* en las colecciones cubanas, donde se incluyeron variedades locales, comerciales, así como especies silvestres pertenecientes a *S. lycopersicum* var. *Cerasiforme*, *S. pimpinellifolium*, *S. habrochaites*, *S. pennellii* y *S. peruvianum* usando la combinación de enzimas MseI/PstI. Los fragmentos ligados se amplificaron selectivamente con combinaciones de cebadores selectivos. Los productos de AFLP *fingerprints* fueron ubicados por presencia o ausencia de bandas, usando el análisis de cluster UPGMA y procesados por NTSYS-pc. Las cinco combinaciones de cebadores utilizadas revelaron 305 productos de amplificación; con un total de 69 bandas polimórficas (22.6 %) se asociaron a patrones diferentes de las accesiones de las especies silvestres *S. peruvianum*, *S. pennellii* y *S. habrochaites*, existiendo alta homología entre *S. lycopersicum* y *S. pimpinellifolium*. Los resultados mostraron una limitada variación genética entre las diferentes accesiones, siendo las especies *S. habrochaites*, *S. pennellii* y *S. peruvianum* las más distantes del tomate cultivado.

Key words: *Solanum lycopersicum*, genetic markers, tomato, genetic variation

Palabras clave: *Solanum lycopersicum*, marcadores genéticos, tomate, variación genética

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es uno de los vegetales de mayor importancia en el mundo, por su extensión, demanda y formas de consumo (1).

En Cuba, este cultivo se conserva *ex situ* en el Instituto de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT), institución encargada por el Ministerio

de la Agricultura del mantenimiento, la conservación y explotación de la colección nacional del tomate, que cuenta con 1 152 entradas, de las cuales hay en existencia 854 accesiones, muchas de ellas corresponden a materiales prospectados en el país, introducidos en Cuba antes de la conquista o en los inicios de esta u obtenidos en Cuba (2, 3, 4). Existen en el país, además, colecciones de trabajo en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y el Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova" (IIHLD). La colección cubana de tomate cuenta con algunas de las especies silvestres de la sección *Lycopersicon* del género *Solanum* L., las que constituyen una valiosa fuente de genes para la tolerancia a estrés bióticos y abióticos, que en su mayoría pueden ser transferidos a la especie cultivada, dado el alto grado de homología genómica existente en el género (5, 6, 7).

Ms.C. Marilyn Florido; Ms.C. Dagmara Plana, Investigadores Agregados; Dra.C. Marta Álvarez, Investigador Titular y Ms.C. Regla M. Lara, Especialista del Departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, CP 32 700; Dr.C. A. Arencibia, Investigador Titular del Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA); J. López, Especialista del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), La Habana, Cuba

✉ mflorido@inca.edu.cu

Aun cuando diferentes instituciones del país han dedicado esfuerzos a la conservación y explotación de los recursos fitogenéticos del tomate en función de la mejora genética, existe amplia variabilidad de estos recursos mantenidos *ex situ*, de los cuales solo se conocen sus datos pasaporte, fundamentalmente del germoplasma autóctono y silvestre, y ello se debe, entre otras causas, a que no se cuenta con una amplia información de sus cualidades y comportamiento ante los diferentes estrés bióticos y abióticos, que están presentes en las condiciones medioambientales de explotación de esta especie en nuestro país.

El conocimiento acerca de la diversidad genética existente puede ser muy útil para diferentes programas de mejoramiento genético. En este sentido, las técnicas moleculares son de gran ayuda para la caracterización y evaluación de la diversidad genética en diversas especies.

En este sentido, el análisis del polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) ha sido una poderosa herramienta molecular de fácil empleo, con alto grado de reproducibilidad y poder discriminatorio. Estos marcadores se han utilizado en estudios filogenéticos, con alto grado de congruencia con otros marcadores como RFLP, SSR y RAPD (8, 9). En el género *Solanum*, los análisis de AFLP se han utilizado para el estudio de la diversidad genética, taxonómicos y en la construcción de mapas interespecíficos (9, 10, 11, 12).

Es por ello que se desarrolló el presente trabajo, para detectar, por análisis de polimorfismo de longitud de los fragmentos amplificados (AFLP), la diversidad genética presente en una muestra representativa del germoplasma de la colección de tomate (*Solanum* L. sección *Lycopersicon* subsección *Lycopersicon*) conservada *ex situ* en el país, donde se incluyeron variedades, líneas, prospecciones; así como especies silvestres pertenecientes a *S. lycopersicum* var. *Cerasiforme*, *S. pimpinellifolium*, *S. habrochaites*, *S. pennellii* y *S. peruvianum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó sobre una muestra representativa del germoplasma de la colección de tomate (*Solanum* L. sección *Lycopersicon* subsección *Lycopersicon*) conservada *ex situ* en el país integrada por diferentes especies (Tabla I), que abarcó el 14,28 % de las accesiones presentes en la colección nacional, la cual cuenta con 854 accesiones (4).

Tabla I. Número de accesiones por especie y clasificación de la muestra de germoplasma de tomate estudiada de acuerdo con su procedencia

Especies	Total	Introducción	Hibridación	Selección	Colecta
<i>S. lycopersicum</i>	90	36	33	11	10
<i>S. lycopersicum</i> var. <i>Cerasiforme</i>	17	10			7
<i>S. pimpinellifolium</i>	11	10			1
<i>S. habrochaites</i>	1	1			
<i>S. peruvianum</i>	2	2			
<i>S. pennellii</i>	1	1			

Para su desarrollo, las semillas pregerminadas de 122 accesiones, donde se incluyeron variedades, líneas, prospecciones y especies silvestres, fueron sembradas a razón de cinco plantas por accesión, en cepellones de 196 alvéolos, que contenían un sustrato compuesto por suelo Ferralítico Rojo compactado: cachaza: zeolita, en proporción 1:2:1.

El ADN genómico total de cada accesión se aisló a partir de hojas jóvenes a los 15 días de sembradas, según el método de CTAB propuesto por Dellaporta (13) y su calidad se comprobó por electroforesis en geles de agarosa 0.8 % (14).

El análisis de AFLP se realizó siguiendo la metodología descrita por Vos (15), para lo cual 0.5 µg de ADN fueron digeridos con las enzimas de restricción *MseI/PstI*, seguido de una ligazón a 37°C durante 3 h. con los adaptadores de estas enzimas. Los fragmentos de ADN ligados fueron preamplificados utilizando dos cebadores complementarios a la secuencia del adaptador y al sitio de restricción. Se realizó una segunda amplificación utilizando dos adaptadores para la enzima *PstI* con dos nucleótidos selectivos (CC y CA), que se combinaron con los adaptadores para *MseI* que presentaban tres nucleótidos adicionales (ACC y GGC); estos conjuntamente con la combinación *MseI+aca* y *PstI+aa* conformaron las cinco combinaciones estudiadas.

Los fragmentos amplificados con estas combinaciones se separaron en geles desnaturalizantes de poliacrilamida al 6.5 %, utilizando gel de secuencias de BioRad, y se revelaron con nitrato de plata. Por último, el gel se secó durante 1h y se procedió a su análisis.

Las bandas se evaluaron de forma binaria considerando el valor 0 como ausencia y 1 como presencia de la banda. A partir de las matrices de los datos originales, se calculó la similitud genética (*Genetic Similarity*, GS_{ij}) entre cada par de accesiones, utilizando solo las bandas polimórficas, mediante el paquete estadístico Ntsys-pc 2.02i. Los agrupamientos se efectuaron con el algoritmo SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical and Nested*) utilizando los índices de similitud de Dice, Simple Matching y Jacard. El método de agrupamiento empleado fue UPGMA (*Unweighted pair-group method arithmetic average*). Las matrices de valor cofenético fueron comparadas con las matrices originales que se utilizaron en los agrupamientos, de acuerdo con la prueba de correspondencia de Mantel, utilizando como criterio la Z estadística normalizada de Mantel y empleando el programa matriz de comparación (Mxcomp), lo que permitió seleccionar el método de agrupamiento a utilizar atendiendo al valor de la correlación (r).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 305 productos de amplificación fueron obtenidos, en el análisis de AFLP a la muestra representativa de germoplasma de tomate analizada, con un promedio de 61 bandas por combinación de cebador (Tabla II).

Tabla II. Número de bandas y porcentaje de polimorfismo en las diferentes combinaciones de cebadores utilizados en el análisis de AFLP

Combinaciones	Total de bandas	Bandas polimórficas	Polimorfismo (%)
1. <i>MseI+aca- PstI+aa</i>	57	0	0
2. <i>MseI+acc- PstI+ca</i>	64	19	29,7
3. <i>MseI+acc- PstI+cc</i>	56	22	39,3
4. <i>MseI+ggc- PstI+ca</i>	52	7	13,5
5. <i>MseI+ggc- PstI+cc</i>	76	21	27,6
Totales	305	69	22,6
—	61	13,8	
\bar{x}			

El número de bandas polimórficas totales fue de 69 para un 22.6 %, destacándose la combinación *MseI+acc- PstI+cc* con un 39.3 % de polimorfismo. La combinación *MseI+aca- PstI aa* resultó monomórfica, presentando idénticos patrones de bandas en las 122 accesiones.

Si bien es cierto que se encontraron bandas polimórficas, en cuatro de las cinco combinaciones estudiadas, se debe destacar que la mayoría de estas bandas generalmente se asociaron a patrones diferentes de las accesiones de las especies silvestres *S. peruvianum*, *S. pennellii* y en menor medida *S. habrochaites*, existiendo alta homología entre *S. lycopersicum* y *S. pimpinellifolium* (Tabla III).

Según la tabla, las combinaciones que presentaron mayor asociación entre especies fueron *MseI+acc- PstI+ca*, *MseI+acc- PstI+cc* y *MseI+ggc- PstI+cc*. La combinación *MseI+acc- PstI+ca* fue capaz de distinguir a *S. pennellii*, *S. habrochaites* y *S. peruvianum* presentando 4, 2 y 2 patrones típicos de estas especies, respectivamente. Asimismo, la combinación *MseI+acc- PstI+cc* reveló la presencia de dos patrones típicos tanto para *S. habrochaites* como para las especies silvestres de fruto verde pertenecientes a *S. habrochaites*, *S. peruvianum* y *S. pennellii*; sin embargo, la mayor asociación se encontró entre las tres accesiones de estas dos últimas especies, las que mostraron nueve patrones comunes. Similar resultado fue encontrado con la combinación *MseI+ggc- PstI+cc*, la cual presentó ocho patrones comunes a estas dos especies, así como tres patrones típicos de la accesión LA-716 perteneciente a *S. pennellii*.

Las bandas polimórficas del análisis AFLP mostraron agrupamientos congruentes utilizando los tres índices de similitud. Las pruebas estadísticas normalizadas de mantel mostraron que las matrices de similitud estaban altamente correlacionadas ($r=0.998$, $t=7,54$, $p=1$, utilizando el índice de similitud de DICE; $r=0.997$, $t=7,56$, $p=1$ utilizando Simple Matching y $r=0.994$, $t=7,51$, $p=1$ para el índice de similitud de Jaccard). Similares resultados ya obtenidos (9) recomiendan utilizar la matriz de similitud de DICE, planteando que este índice le da menos peso a la ausencia de bandas compartidas y que presenta un algoritmo apropiado para el análisis de AFLP que es predominantemente un marcador dominante.

El remuestreo hecho hasta 750 veces permitió diferenciar cuatro grupos sólidos fundamentales con valores por encima del 90 % (Figura 1). Esta representación gráfica permitió estimar las relaciones entre las accesiones, las que formaron grupos muy relacionados entre sí, en la mayoría de las accesiones analizadas.

En los agrupamientos obtenidos, se observó que las accesiones pertenecientes a *S. lycopersicum*, *S. lycopersicum* variedad *Cerasiforme* y *S. pimpinellifolium*, especies que son genéticamente cercanas entre sí, conformaron el grupo I, presentando índices de similitud cercanos a 1 y con un valor del remuestreo del 100 %, próximo a este grupo se ubicó la accesión PE 39 perteneciente a *S. habrochaites*, con un valor del remuestreo del 95.7 % e IS aproximado de 0.70. Los grupos III y IV se conformaron con las accesiones 1159 y BG-140 de *S. peruvianum* (grupo III, y LA-716) y *S. pennellii* (grupo IV), siendo sólidos en un 94,1 y 100 %, respectivamente.

Estos resultados corroboran el bajo nivel de polimorfismo molecular existente en la sección *Lycopersicon* del género *Solanum*, obtenidos en estudios taxonómicos (9) realizados en el género, utilizando cuatro combinaciones con estas enzimas de restricción (*MseI+agc- PstI+ac*, *MseI+acc- PstI+ag*, *MseI+agt- PstI+ag*, *MseI+agg- PstI+ct*), donde se encontraron índices de similitud entre *S. lycopersicum* y *S. pimpinellifolium*, y entre *S. lycopersicum* y *S. pennellii* de 0.85 y 0.54, respectivamente. Basados en estos estudios taxonómicos por AFLP, de conjunto con datos morfológicos y cloroplastídicos, de secuenciación del gen GBSSI (*Granule-Bound Starch Synthase*) y evidencias biogeográficas, se ha reconsiderado recientemente la clasificación taxonómica del tomate y del género *Lycopersicon* y lo ubicaron en la sección *Lycopersicon* dentro del género *Solanum* (16).

Tabla III. Análisis de los patrones de banda obtenidos en las cuatro combinaciones polimórficas

Patrones de bandas asociados a grupos de especies	C 2	C 3	C 4	C 5
Asociaciones presentes solo en <i>S. lycopersicum</i>	-	-	-	-
Asociaciones presentes solo en <i>S. pimpinellifolium</i>	-	-	-	-
Asociaciones presentes solo en <i>S. habrochaites</i>	2	2	-	1
Asociaciones presentes solo en <i>S. peruvianum</i>	2	-	-	1
Asociaciones presentes solo en <i>S. pennellii</i>	4	-	1	3
Asociaciones presentes solo en accesiones con fruto verde (excepto <i>S. habrochaites</i>)	(1)	2 (9)	1 (1)	1 (8)

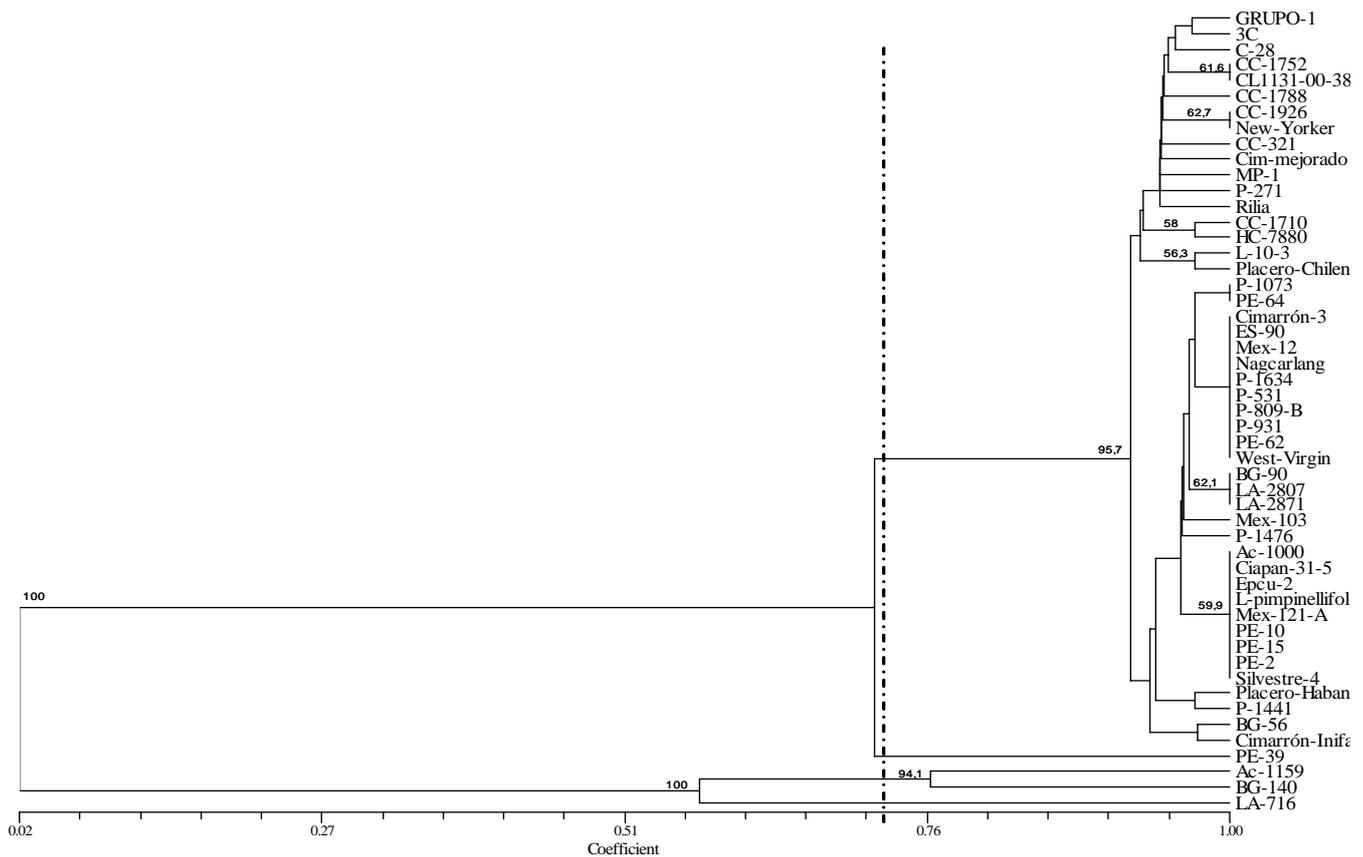


Figura 1. Agrupamiento de los 122 genotipos de tomate utilizados basado en las bandas polimórficas de AFLP y utilizando el coeficiente de DICE y el método de agrupamiento UPGMA. Los resultados por encima del 50 % en el remuestreo hecho hasta 750 veces se indican a la izquierda en cada nudo del dendrograma

La mayor divergencia de la accesión de *S. pennellii* con respecto a *S. peruvianum* era esperada, pues a pesar de que esta especie se ubica dentro de la sección *Lycopersicon* del género *Solanum*, hasta hace pocos años perteneció a la sección *petota* de este género (17).

El limitado polimorfismo molecular encontrado entre *S. lycopersicum*, *S. lycopersicum* variedad *Cerasiforme* y *S. pimpinellifolium*, evidencian la base genética relativamente estrecha existente en tomate, lo que se corresponde, en general, con diversos planteamientos (6, 10, 18, 19), que han informado la presencia de un bajo nivel de polimorfismo utilizando diversas técnicas moleculares en tomate.

Con relación a esto, se han realizado varios estudios de variabilidad molecular en accesiones de *S. lycopersicum*, colectados en centros primarios y secundarios de diversidad, los que han revelado que la especie ha sufrido una considerable reducción en la diversidad genética en el curso de su domesticación, así como en el mejoramiento en busca de cultivares más productivos. Asimismo, Nuez (20) y Saavedra (18) han planteado que la escasa variabilidad en el material cultivado, en comparación con otras especies del género, ha indicado que la migración de los antepasados estuvo acompañada, probablemente, de restric-

ciones frecuentes en el tamaño de las poblaciones durante el proceso de domesticación, lo que puede haber contribuido a la fijación rápida de los genes, una reducción ulterior de la variabilidad genética y uniformidad en el cultivo. Es por ello que la mayoría de los trabajos de mejoramiento genético en el cultivo, fundamentalmente aquellos relacionados con la resistencia a patógenos y construcción de mapas genéticos altamente saturados, se han realizado con las especies más distantes dentro del complejo.

Estos resultados evidencian que si bien en el cultivo existe amplia diversidad morfoagronómica, desde el punto de vista molecular el cultivo es bastante homogéneo, por lo que se debe continuar con la búsqueda de nuevas formas polimórficas en el cultivo, incorporando en lo posible nuevas combinaciones de enzimas y cebadores, que permitan explorar toda la variación existente al nivel de ADN, a fin de utilizar eficientemente estos marcadores en los programas de mejoramiento genético asociados con estrés medioambientales, en los cuales los genes de tolerancia en el carácter a mejorar provienen de la especie cultivada o de especies genéticamente muy cercanas. Asimismo, se deben explorar otros marcadores moleculares con alta capacidad discriminatoria en toma-

te, como los microsatélites (SSR) y Polimorfismo de Amplificación Específica de Secuencia o *retrotransposon-based sequence-specific amplification polymorphism* (SSAP); este último es cuatro a nueve veces más informativo en el cultivo que los AFLP (12).

CONCLUSIONES

- * En el estudio realizado se detectó un bajo porcentaje de polimorfismo en la muestra evaluada, lo que indica una alta homología entre la sección *Lycopersicon* del género *Solanum*.
- * El bajo porcentaje de polimorfismo se relacionó con la detección de cuatro grupos de diversidad, compuestos por las accesiones de *S. peruvianum*, *S. pennellii* y *S. habrochaites*, los tres últimos, mientras el primer grupo de diversidad se conformó con las accesiones de *S. lycopersicum* y *S. pimpinellifolium*, debido al alto grado de homología existente entre ambas especies.

RECOMENDACIONES

Los resultados muestran la necesidad de complementar los estudios moleculares con nuevas combinaciones de cebadores adicionales o utilizar otras enzimas de restricción, lo que implicaría otros adaptadores u otra opción que pudiera emplear otro tipo de marcadores, con vistas a detectar nuevas formas polimórficas en el cultivo.

REFERENCIAS

1. Moya, C.; Álvarez, M.; Plana, D. Florido, M. y Lawrence, C. J. B. Evaluación y selección de nuevas líneas de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) con altos rendimientos y frutos de alta calidad. *Cultivos Tropicales*, 2005, vol. 26, no. 3, p. 39-43.
2. Esquivel, M. T.; Shagardsky, L.; Walón, L. y Caraballo, M. Collecting in the Central province of Cuba. *FAO/IPGRI. Plant Gen. Res. Newsletter*, 1991, vol. 83-84, p. 19-21.
3. Álvarez, M.; Moya, C.; Florido, M. y Plana, D. Resultados de la mejora genética del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y su incidencia en la producción hortícola de Cuba. *Cultivos Tropicales*, 2003, vol. 24, no. 2, p. 63-70.
4. Shagardsky, T. Caracterización de la variabilidad del germoplasma de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) conservada *ex situ* en Cuba. Su presencia y distribución *in situ*. [Tesis de Maestría]; Universidad de La Habana. 2006, 122 p.
5. Gómez, O.; Casanova, A.; Laterrot, H. y Anaïs, G. Mejora genética y manejo del cultivo del tomate para la producción en el Caribe. La Habana: Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". 2000. 159 p.
6. Saavedra, G. y Spoor, W. Genetic base broadening in autogamous crops. *Lycopersicon esculentum* Mill. as a model. En: Engels, J., Brown, A.; Jackson, M.T. (Eds.). *Managing Plant Genetic Resources*". 2002. p. 291-299.
7. Tomato Crop Germplasm Committee Report (TCGCR). [Consultado marzo 23, 2005]. Disponible en: <www.ars-grin.gov/npgs/cgcweb.html>.
8. Russell, J. R.; Fuller, J. D.; Macaulay, M.; Hatz, B. G.; Jahoor, A.; Powell, W. y Waugh, R. Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor. Appl. Genet.*, 1997, vol. 95, p. 714-722.
9. Spooner, D. M.; Peralta, I. y Knapp, S. Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.]. *Taxon*, 2005, vol. 54, p. 43-61.
10. Saliba-Colombani, V.; Causse, M.; Gervais, L. y Philouze, J. Efficiency of RFLP, RAPD, and AFLP markers for the construction of an intraspecific map of the tomato genome. *Genome*, 2000, vol. 43, no. 1, p. 29-40.
11. Lara-Cabrera, S. I. y Spooner, D. M. Taxonomy of North and Central American diploid wild potato (*Solanum* sect. *Petota*) species: AFLP data. *Pl. Syst. Evol.*, 2004, vol. 248, p. 129-142.
12. Tam, S. M.; Mhiri, C.; Vogelaar, A.; Kerkveld, M.; Pearce, S. R. y Grandbastien, M. A. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. *Theor. Appl. Gen.*, 2005, vol. 110, no. 5, p. 819-831.
13. Dellaporta, S. L.; Wood, J. y Hichs, J. B. A plant molecular DNA minipreparation, versión II. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 1993, vol. 1, p. 19-21.
14. Sambrook, J.; Fritsch, E. F. y Maniatis, T. *Molecular cloning. A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
15. Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; van de Lee, T.; Hornes, M.; Fritjers, A.; Pot, J.; Kuiper, M. y Zabeau, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 1995, vol. 23, no. 21, p. 4407-4414.
16. Peralta, I. E. y Spooner, D. M. Morphological characterization and relationships of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*). *Monog. Sept. Bot. Missouri Bot. Gard*, 2005, vol. 104, p. 227-257.
17. Anaïs, G. Tomato. En: A. Charrier; M. Jacquot; S. Hamon; D. Nicolas eds. *Tropical Plant Breeding*. CIRAD & Science Publishers, 2001, p. 524-53.
18. Saavedra, G.; Spoor, W. y Harrier, L. Molecular markers and base broadening in *Lycopersicon* Spp. *Acta. Hort.*, 2001, p. 545.
19. Carelli, B. P.; Gerald, L. T. S.; Graziolin, G. y Echeverrigaray, S. Genetic diversity among Brazilian cultivars and landraces of tomato revealed by RAPD markers. *Gen. Res. Crop. Evol.*, 2004, vol. 66, p. 1-6.
20. Nuez, F.; Diez, M. J.; Pico, B. y Fernández de Córdova, P. Catálogo de semillas de tomate. Banco de germoplasma de la Universidad Politécnica de Valencia. Madrid: Instituto Nacional de Investigaciones y Tecnología Agraria y Alimentaria. 1996, 177 p.

Recibido: 28 de noviembre de 2006

Aceptado: 18 de octubre de 2007