



Revisión bibliográfica LA SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES (MAS, «Marker-Assisted Selection») EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Review

Marker-Assisted Selection (MAS) in the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) breeding

Marta Álvarez Gil✉

ABSTRACT. Conventional plant breeding is primarily based on phenotypic selection of superior individuals among segregating progenies resulting from hybridization. It is often time consuming as breeding a new cultivar takes between eight and ten years and even then, the release of improved cultivar is not guaranteed. Hence, breeders are extremely interested in new technologies that could make this procedure more efficient. Marker-assisted selection, often simply referred to as Marker-Assisted Selection (MAS) offers such a possibility by adopting a wide range of novel approaches to improving the selection strategies in crop breeding. Molecular markers are powerful research tools that make it possible to determine the genetic makeup of plants; for that it is possible the selection by plants genotype. In this paper, we refer the significant advancements towards application of molecular marker technology for crop improvement in the last decade, in tomato. Finally, we discuss reasons why the greater adoption of MAS in the future is inevitable, although the extent of its use will depend on available resources, and may be delayed in less-developed countries.

RESUMEN. La mejora convencional de plantas se basa en la selección por el fenotipo de los individuos de interés por alguna característica distintiva, entre los individuos de progenies segregantes resultado de la hibridación. La obtención de nuevos cultivares por esta vía se toma no menos de ocho a 10 años y, en ocasiones, no se garantiza la obtención de ese cultivar mejorado. Los mejoradores, por consiguiente, están muy interesados en que surjan nuevas tecnologías que ayuden a ser más eficiente este proceso. La selección asistida por marcadores (del inglés Marker-Assisted Selection, MAS) ofrece numerosas ventajas, con un enfoque nuevo que permite hacer mucho más eficiente las estrategias de selección en los programas de mejora de los cultivos. Los marcadores moleculares se han convertido en poderosas herramientas para hacer posible la determinación de las características genéticas de las plantas y seleccionar por el genotipo, en lugar de por el fenotipo. En el presente trabajo se hace una breve referencia a los avances significativos que se han obtenido mediante la aplicación de la selección asistida por marcadores moleculares en el tomate, en la última década. Finalmente, se discuten las razones que hacen inevitable la adopción de MAS en el futuro, aunque su generalización dependerá de los recursos disponibles, y pudiera tardarse en los países en vías de desarrollo.

Key words: marker-assisted-selecion, MAS, tomato, plant breeding, molecular markers, linkage maps

Palabras clave: selección, MAS, tomate, mejora genética, marcadores moleculares, mapas genéticos

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (1), visible en el sitio http://www.sgn.cornell.edu/about/solanum_nomenclature.pl, es la especie que

menor variabilidad genética posee dentro del género *Solanum*. Posee solo el 5% de la variabilidad genética total de las especies de la subsección *Lycopersicon*, cuya amplia variabilidad genética radica en el genoma de las especies silvestres, las que han sido la fuente de la mayoría de los genes introducidos («introgressados») en el tomate, fundamentalmente, aquellos que determinan resistencia a enfermedades,

calidad de los frutos y otros caracteres de importancia (2).

Es por ello que, la introducción de genes desde las especies silvestres hacia el tomate ha sido y seguirá siendo la base genética fundamental para el logro de cultivares e híbridos con nuevas características (3). Los primeros, fueron mediante métodos convencionales, lo cual requirió un gran esfuerzo por parte de los mejoradores. En los últimos años,

Dra.C. Marta Álvarez Gil, Investigadora Titular del departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32 700.

✉ malvarez@inca.edu.cu

gracias al desarrollo científico y tecnológico, se ha logrado la implementación de nuevas herramientas biotecnológicas que ofrecen amplias posibilidades para que los mejoradores se puedan trazar objetivos que fueron inalcanzables, hasta hace unos años. Entre estas, la de los marcadores genéticos estrechamente ligados a los genes de interés, que les permite la introducción de genes al tomate con mayor efectividad (4).

Los marcadores genéticos se han empleado en diferentes fases de la mejora de las plantas: el premejoramiento (conservación y uso de los recursos genéticos, conocimiento y uso del sistema reproductivo, caracterización y pureza de cultivares para emplearlos como progenitores); el mejoramiento (selección de progenitores y monitoreo en los híbridos, selección asistida para caracteres cualitativos y cuantitativos, introgresión de genes desde especies silvestres) y el post mejoramiento (caracterización y pureza de cultivares en los lotes de semilla, desarrollo e identificación de Organismos Genéticamente Modificados, entre otros). Estos se han empleado, también con éxito, en otras líneas de investigación en plantas, tales como la filogenia, el diagnóstico de patógenos y la agroindustria (5, 6).

Aún cuando algunos tipos de marcadores (morfológicos y bioquímicos) existían desde hace décadas, estos se empleaban con discreción, y no fue hasta el advenimiento de la tecnología de marcadores de Ácido desoxirribonucleico (ADN, «Deoxyribonucleic acid»), en la década de los años 80, que se abrió el camino hacia el uso práctico y rutinario de una nueva generación de marcadores, los marcadores moleculares de ADN. Gracias a los avances logrados en la automatización de la tecnología de ADN y proteínas, se ha abierto una nueva etapa en el conocimiento de las funciones génicas (genómica), lo que ha permitido el diseño de marcadores génicos a partir de las secuencias de los propios genes de

interés, y con éstos, la mejora genética adquirirá un nuevo enfoque (7).

Estos marcadores de ADN, ligados a genes de interés, pueden ser empleados para detectar la presencia de variaciones alélicas en éstos, con una eficiencia y precisión mejoradas. En los últimos años, se ha logrado saturar los mapas de ligamiento del tomate con dichos marcadores, y han sido asimilados por las compañías de semillas e Instituciones públicas para asistir a la selección en la mejora genética de esta especie (8), mediante lo que se ha dado en llamar la selección asistida por marcadores (MAS, «Marker-Assisted Selection»), la cual es una componente de la nueva disciplina denominada 'mejoramiento molecular' (9).

La selección asistida por marcadores está ganando una considerable importancia en el incremento de la eficiencia de la mejora de las plantas, al permitir transferir de forma más precisa, que los métodos clásicos de selección, regiones genómicas de interés (*foreground selection*) y acelerar la recuperación del genoma del parental recurrente (*background selection*). La MAS ha sido empleada ampliamente para caracteres de herencia simple y, en menor medida, para caracteres poligénicos, aunque existen algunos casos exitosos en la mejora de caracteres cuantitativos mediante estas técnicas (10).

Actualmente, algunos laboratorios trabajan en el estudio de las bases genéticas de los caracteres de importancia agronómica en las especies del género *Solanum*, incluidos los caracteres complejos, como el rendimiento, la calidad de los frutos y la tolerancia a estreses y a algunas enfermedades complejas. El genoma del tomate está siendo secuenciado por un consorcio internacional de 10 países (11), que ha derivado múltiples bases de datos sobre genes, expresiones génicas y metabolitos, entre otros, que pueden ser localizados en la Red Genómica SOL (SGN, SOL Genomics Network, <http://sgn.cornell.edu>).

En este artículo, se expondrán las potencialidades de la selección asistida por marcadores moleculares en el tomate, por ser una aplicación directa a los programas de mejora de esta especie, dirigidos a la obtención de nuevos cultivares e híbridos. Se hará referencia también al surgimiento y aplicación de estos, la disponibilidad actual de mapas de ligamiento y marcadores de ADN en el tomate, mapeados y estrechamente ligados a caracteres de interés, así como los cambios en la concepción y estrategias en la mejora actual y futura de este cultivo, condicionados por los avances tecnológicos de los últimos años.

SURGIMIENTO DEL MEJORAMIENTO MOLECULAR

La asimilación de las innovaciones logradas en la Biología y la Genética por la mejora de las plantas data desde sus inicios, en que algunos mejoradores de plantas reconocieron de inmediato la importancia de la Genética Mendeliana, aunque no fue hasta comienzos del siglo 20, cuando la genética cuantitativa reconcilió los principios mendelianos con la variación continua, que se reconoció de forma pública una integración completa de los principios de la genética y la mejora de las plantas (12).

Los avances continuados que ha tenido la Biología Vegetal, el análisis e inducción de variaciones genéticas, la Citogenética, la Genética cuantitativa, la Biología molecular, la biotecnología y, más recientemente, la Genómica, han incrementado los conocimientos científicos y la aplicación de nuevas tecnologías al proceso de mejora de plantas (7, 13, 14) y han establecido nuevas herramientas para la creación, análisis y manipulación de la variación genética y el desarrollo de cultivares mejorados (7, 9, 15), siendo una realidad actual el mejoramiento molecular como una práctica cotidiana y estandarizada para algunos cultivos.

Tal es así, que a principios de 1980 aparecieron los primeros reportes de plantas transgénicas usando *Agrobacterium* (16, 17, 18) y en 1996, poco más de 10 años, ya se comercializaban los primeros cultivos transgénicos (19, 20). También en esa década, comenzaron a desarrollarse mapas genéticos de alta resolución y a explotarse el ligamiento genético entre marcadores y caracteres de importancia para los cultivos (21).

En los 90s, aparecieron ya las primeras aplicaciones de la Selección Asistida por Marcadores para la introducción de caracteres (22, 23), lográndose cultivos por esta vía. Las justificaciones para el desarrollo y empleo de la MAS en el mejoramiento de las plantas se resumen en cuatro áreas: 1- caracteres de difícil manejo a través de la selección fenotípica debido a su carestía, tiempo y dificultades en la medición o herencia compleja; 2- caracteres cuya selección depende de ambientes específicos o estadios de desarrollo que influyen en la expresión del fenotipo; 3- mantenimiento de alelos recesivos durante el retrocruzamiento y 4- combinación de genes múltiples monogénicos (tales como los genes de resistencia a enfermedades o calidad de los frutos) o *locus* de caracteres cuantitativos (QTL) para un carácter de interés, con herencia compleja (tales como tolerancia a sequía, u otros caracteres económicos o adaptativos) (24).

La incorporación de genes múltiples afectando el mismo carácter es un gran reto para los programas de mejoramiento de plantas, ya que para muchos cultivos se requieren cultivos o híbridos que posean una combinación de diversas resistencias a estreses bióticos, tolerancia a estreses abióticos, caracteres agronómicos y de calidad, que permitan la estabilidad en los rendimientos y la aceptación por los productores.

Si bien en este sentido se han reportado cultivos o híbridos obtenidos mediante la MAS, el mayor impacto de la mejora molecular

basada en esta se apreciará, solamente, cuando los sistemas de mejora se adapten al empleo en gran escala del «genotipado» para caracteres múltiples y se obtenga el mismo progreso en mucho menor tiempo que mediante la mejora convencional; lográndose combinar (piramidal) genes, incluso de caracteres complejos, que tengan baja heredabilidad y efectos de genes epistáticos o factores ambientales, lo cual no sería posible por métodos convencionales (24).

Según algunos autores (25), la genómica está definiendo la revolución tecnológica del mejoramiento asistido. En el futuro, ya no se enfocará la MAS para incorporar un carácter definido por un simple marcador, sino para combinar caracteres definidos por múltiples marcadores en un mismo genotipo.

También, será posible un nuevo enfoque y aplicación de los resultados obtenidos por la genómica, gracias al avance en el conocimiento sobre las estructuras y funciones de los genes en diferentes especies de plantas. Estas nuevas herramientas tecnológicas permitirán una mejor integración de la mejora convencional, la genética y la genómica, lo que hará transitar la MAS hacia la mejora asistida por genómica.

MARCADORES MOLECULARES EN PLANTAS, CON REFERENCIA AL TOMATE

Durante muchos años, la mejora genética se basó en la selección por el fenotipo, es decir, la selección directa por el carácter de interés, cuya eficiencia dependía de la heredabilidad del carácter, la influencia del ambiente, el tipo de herencia (monogénica o multigénica) y de la dominancia parcial o total del carácter en estudio.

Muchas de las complicaciones de la selección por el fenotipo se han podido solucionar, gracias a la selección indirecta con marcadores

genéticos ligados al gen de interés. En este artículo, se hará referencia solo a este tipo de marcadores indirectos, ya que los marcadores que permiten una selección directa, y que son aquellos derivados del polimorfismo dentro del propio gen de interés, están aun siendo objeto de investigación o no están accesibles para utilizarse en la práctica rutinaria de los programas de mejora vegetal.

Un marcador genético es, a criterio de algunos autores (26), una variante alélica que se utiliza para marcar una estructura biológica o proceso a lo largo de un experimento genético. Para otros (5), es cualquier diferencia fenotípica controlada genéticamente y utilizada en el análisis genético. Por tanto, un marcador genético es un locus marcador que tiene que ser polimórfico y emplearse con una doble finalidad, para marcar o señalar el locus que controla la diferencia fenotípica y para marcar otro locus próximo (ligado) que controla el carácter de interés. Los atributos ideales de un marcador genético para estos autores son: (a) polimórfico (multialélico); (b) codominante; (c) no epistático, es decir, se puede leer el genotipo a partir del fenotipo, independientemente del genotipo de otros loci; (d) neutro, las sustituciones alélicas no tienen otros efectos fenotípicos y (e) insensible al ambiente, es decir, el genotipo se infiere a partir del fenotipo, independientemente del medio.

Los primeros marcadores utilizados en el análisis genético fueron morfológicos, que fueron muy usados para analizar la segregación de los cruzamientos y los primeros en ser mapeados. Estos marcadores, sin embargo, tuvieron un uso limitado, principalmente, porque su expresión podía estar influenciada por el ambiente, por factores genéticos (por ejemplo, epistasis o genes modificadores), lo que altera el fenotipo de la planta e interfiere en el mejoramiento (27).

Un segundo grupo de marcadores, los bioquímicos, comprenden proteínas de reserva de la semilla e

isoenzimas, considerados estos últimos, como la primera generación de marcadores moleculares; a pesar de su naturaleza codominante y poca influencia ambiental en su expresión, su número es limitado, por lo que detectan bajos niveles de variación, condición necesaria para un mapa denso (28), aunque algunos de estos marcadores han sido empleados con éxito como marcadores y se siguen utilizando en la actualidad para algunos caracteres de interés (29).

Dentro del tercer grupo de marcadores se encuentran aquellos que detectan polimorfismo a nivel del ADN. Diversas son las técnicas que se utilizan para obtener estos marcadores moleculares basados en el ADN, tales como:

1. *Marcadores basados en la hibridación*: Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, «Restriction Fragment Length Polymorphism»; 30).

Los RFLPs, a pesar de tener los atributos ideales para un marcador y haber sido ampliamente empleados para generar mapas de alta densidad en tomate (31, 32) y otros cultivos, tienen el inconveniente de que su análisis en el laboratorio es costoso y, frecuentemente, se necesitan isótopos radioactivos para su resolución, y aún cuando en los últimos años los costos se han reducido progresivamente y nuevas técnicas limpias de fluorescencia han sustituido a los isótopos radiactivos, no es accesible para el análisis automatizado del «genotipado» de las poblaciones, ni para el análisis rutinario de selección en poblaciones segregantes dentro de un programa de mejora.

2. *Marcadores basados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, «Polymerase Chain Reaction»)*: Polimorfismo de ADN Amplificado al Azar (RAPD, «Random Amplification of Polymorphic DNA»; 33); Polimorfismo de la Longitud de los fragmentos amplificados (AFLP, «Amplified Fragment Length Polymorphism»; 34, 35), Microsatélites (SSR, «Simple

Sequence Repeats»; STRs; «Short Tandem Repeats»; 36, 37).

Los RAPDs, muy fáciles de analizar (después de la extracción del ADN, solo se necesitan de cuatro a seis horas para su amplificación y separación electroforética), y al igual que los RFLPs, pueden cubrir densamente el genoma; sin embargo, el inconveniente de no poseer el atributo de la co-dominancia, ocasiona la no distinción del genotipo homocigótico dominante del heterocigótico, lo cual es imprescindible para realizar la separación de individuos en la generación F_2 ; y también, se le atribuye poca repetibilidad de los resultados en los diferentes laboratorios. A pesar de estos inconvenientes, se han mapeado numerosos marcadores RAPDs en plantas.

Los marcadores AFLPs, basados en la combinación de dos técnicas, la digestión con enzimas de restricción, propia de los RFLPs, y la PCR, usada para muchos otros marcadores, tienen la ventaja de poder obtener un número muy elevado de polimorfismos en poco tiempo, y son más reproducibles que los RAPDs, en cambio, son dominantes y específicos de las poblaciones con que se trabaja (38), además, su metodología es compleja y cara, comparados con éstos. Han sido muy utilizados en los análisis de variabilidad y mapas de ligamiento, así como en la búsqueda de marcadores en las proximidades de genes mayores de interés.

Los microsatélites o SSRs, son secuencias cortas de ADN que se encuentran distribuidas amplia y uniformemente en el genoma de la mayoría de los eucariontes, no son transcritas a ARN (*Ribonucleic acid*) y se les atribuye varias funciones, entre ellas, la de regulación génica. Además de polimórficos, son codominantes y altamente reproducibles. Han sido usados en plantas en la construcción de mapas genéticos (39), identificación y pureza varietal, estudios de diversidad, análisis de *loci* de caracteres

cuantitativos (QTLs), entre otras aplicaciones.

3. *Marcadores basados en secuencias*: El Polimorfismo de nucleótidos simples (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*; 40), son el producto de sustituciones nucleotídicas que ocurren en el genoma con muy alta frecuencia, muy útiles en la confección de mapas, pero su desarrollo depende de secuenciaciones automatizadas, por lo que son caros, lo que limita su uso en proyectos a gran escala.

Para evitar los inconvenientes y aprovechar las ventajas de algunos de los marcadores altamente polimórficos (RFLPs, RAPDs y AFLPs) anteriormente mencionados, se han generado marcadores basados en una Región amplificada y caracterizada secuencialmente (SCAR, *Sequence Characterised Amplified Region*; 41) o Secuencia Polimórfica Amplificada y Digerida (CAPS, *Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*; 42).

Estos marcadores, basados en la PCR, son dependientes de secuencias obtenidas mediante otros marcadores, ya que se diseñan sus cebadores (*primers*) a partir de la secuencia del marcador que se derive, sea RFLPs, RAPDs o AFLPs, previamente mapeados. En el caso de los CAPS se requiere, además, digestiones con enzimas de restricción de los productos amplificados; pudiendo derivarse también a partir de marcadores STSs. Sus ventajas de ser codominantes y robustos se adicionan a las que caracterizan al resto de los marcadores basados en la PCR, rapidez, menor laboriosidad y costo, pudiendo ser empleados en la MAS y el mapeo.

Por otra parte, la identificación de marcadores SSRs y SNPs ha sido grandemente mejorada a partir del acceso a bases de datos de secuencias. También, el libre acceso a grandes colecciones de secuencias expresadas (EST, *Expressed Sequence Tag*; 43), que han sido derivadas de cerca de 23 librerías de clones de ADN (cADN; 44, 45). Su uso en tomate

está ampliamente descrito por algunos autores (45, 46, 47); y están accesibles en el sitio web: <http://ted.bti.cornell.edu/>.

Asimismo, se han creado los COS (*Conserved Ortholog Set*, 48), obtenidos a partir de tamizar grandes bases de datos de marcadores EST y contrastarlas con las secuencias genómicas de *Arabidopsis*, identificándose una colección de 1025 marcadores COS, que son copias pequeñas o simples coincidentes en ambos genomas, muy útiles para el mapeo comparativo entre géneros, pero de bajo polimorfismo por ser secuencias conservadas.

Los tipos de marcadores de ADN que se han usado, mayoritariamente, en el mapeo genético de plantas superiores, incluidas las Solanáceas, han sido los RFLPs, RAPDs, AFLPs y SSRs, entre otros. El tomate, ha sido una de las especies cultivadas para la que una gran cantidad de marcadores se ha identificado y mapeado, entre los que se destacan los RFLPs, ESTs, SSRs, CAPSs, RAPDs, SCARs y AFLPs (Tabla I).

La cantidad de marcadores identificados cambia muy rápidamente, y están accesibles para Solanáceas, en el sitio <http://soldb.cit.cornell.edu/>. Gracias al esfuerzo que se ha realizado en el Proyecto internacional de secuenciación del tomate (11) se ha incrementado sustancialmente el desarrollo de los marcadores moleculares y su efectividad en los últimos años. Los cebadores para muchos de los marcadores en tomate se encuentran accesibles en los siguientes sitios: <http://www.sgn.cornell.edu> (11) <http://www.kazusa.or.jp/jsol/microtom/index.html> (49) <http://www.tomatomap.net>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (50) <http://www.dpw.wau.nl/pv/CAPStomato/> (51).

No obstante, un problema en el desarrollo de los marcadores en tomate ha estado presente para la mayoría de los marcadores, incluidos los RFLPs y los marcadores basados en la PCR, no detectan polimorfismo dentro de la especie cultivada, *S. lycopersicum* L. (2, 52, 53). Esto ha limitado el uso de los marcadores

en la explotación de la variación intraespecífica de esta especie. Recientemente, se han destinado esfuerzos a desarrollar marcadores genéticos de alta resolución, los SNPs (54, 55, 56, <http://www.tomatomap.net/>), que son altamente polimórficos.

Una revisión completa sobre las aplicaciones de los marcadores moleculares en la mejora de plantas (5) y sobre marcadores moleculares en tomate (8) puede ser encontrada en la literatura.

MARCADORES LIGADOS A UN GEN DE INTERÉS EN EL TOMATE

Los primeros mapas de ligamiento que se confeccionaron para el tomate se basaron en caracteres morfológicos visualmente distinguibles. Hedrick y Booth en 1907 publicaron el primer mapa de ligamiento mendeliano en caracteres morfológicos (47). En 1952, Rick desarrolló uno de los mapas genéticos más completos en tomate, utilizando caracteres morfológicos (57). En cambio, otro autor (58) reconoció como el primer mapa de ligamiento clásico de tomate el reportado en 1968, con 153 marcadores morfológicos y fisiológicos, ubicados sobre los 12 grupos de ligamiento de la especie.

Posteriormente, se le adicionaron las isoenzimas, publicándose en 1980 el primer mapa de ligamiento completo con 19 marcadores isoenzimáticos mapeados (59), convirtiéndose este en el último mapa de ligamiento clásico publicado, con cerca de 400 genes morfológicos, fisiológicos, isoenzimáticos y de resistencia a enfermedades (60, 61) (Tabla I).

Aunque en 1986 fue publicado el primer mapa de ligamiento molecular de tomate, conteniendo 18 marcadores isoenzimáticos y 94 marcadores de ADN (31), no fue hasta 1992 que se publicó el primer mapa de ligamiento de alta densidad, conteniendo 1030 marcadores (62), basado en 67 plantas F_2 de un cruce entre *S. lycopersicum*

cv. VF36-*Tm2a* y *S. pennellii* LA716, que incluye marcadores morfológicos, isoenzimáticos y de ADN. En 1996, fue publicada otra versión más saturada de este mapa (63) y ya en 2007, se publicó un mapa de ligamiento de alta densidad con 2,222 marcadores moleculares mapeados (http://www.sgn.cornell.edu/cview/map.pl?map_id=9), con el cual fue posible que cualquier gen de interés ubicado en la población segregante de *S. lycopersicum* y *S. pennellii* esté próximo, al menos, a un marcador molecular (3).

La mayor parte de los mapas de ligamiento del tomate referidos anteriormente han sido construidos basándose en marcadores RFLPs, RAPDs, AFLPs y SSRs los denominaron Marcadores de ADN aleatorios (RDMs, *Random DNA Markers*), debido a que estos, no necesariamente, fueron desarrollados a partir de sitios polimórficos en el propio gen; en cambio, denominaron Marcadores Moleculares Génicos (GMMs, *Genic Molecular Markers*) a una nueva generación de marcadores que ha surgido, en los últimos años, y que se desarrollan a partir de las secuencias previamente codificadas de genes completos, o parte de estos (7).

Actualmente, los grandes números de secuencias de genes expresados, ESTs, junto a los Análogos de Genes de Resistencia (RGAs) en el tomate, podrían ser empleados, según algunos autores (64), en el desarrollo de marcadores moleculares génicos y en la saturación de los mapas, o ser usados como candidatos para identificar genes funcionales. Otro enfoque (65) es tratar de mapear loci de caracteres cuantitativos por su expresión, mediante el análisis y clasificación de series de mRNAs (*messenger Ribonucleic Acid*).

A pesar de los mapas creados, a partir de cruces entre especies, a partir de los cruces de *S. lycopersicum* con especies silvestres: *S. cheesmaniae*, *S. chmielewskii*; *S. habrochaites*, *S. lycopersicoides*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, *S. neorickii*, *S. pennellii*, *S. peruvianum* y *S. pimpinellifolium* (Tabla I) y Sol genomics network,

Tabla I. Mapas confeccionados en poblaciones de diferentes especies de tomate y tipo de marcadores

Poblaciones de mapeo	No. marcadores	Tipo de marcadores	Referencias ^{*+}	Sitio en internet
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. cheesmaniae</i> UC204B×LA483	71	RFLP	Paterson /et al./ 1991	
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. chmielewskii</i> UC82B × LA1028	70	RFLP, isoenzimas	Paterson /et al./ 1988	
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. habrochaites</i> E6203 × LA1777	135	RFLP	Bernacchi y Tanksley, 1997	http://www.sgn.cornell.edu
NC84173 × I126445	171	RFLP	Zhang /et al./ 2002	
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. lycopersicoides</i> VF36 × LA2951	93	Isoenzimas, morfológicos, RFLP	Chetelat y Meglic 2000, Chetelat /et al./ 2000	http://www.ncbi.nlm.nih.gov
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> Cervil × Levovil	377	RFLP, RAPD, AFLP, Morfológicos	Saliba-Colombani /et al./ 2000	
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. neorickii</i> E6203 × LA2133	133	RFLP	Fulton /et al./ 2000	
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. pennellii</i> VF36 × LA716	84	RFLP	Bernatzky y Tanksley 1986	http://www.ncbi.nlm.nih.gov
	1030	Isoen, morfológicos, RFLP	Tanksley /et al./ 1992	http://www.sgn.cornell.edu , http://www.ncbi.nlm.nih.gov
	368	RFLP, SSR	Broun y Tanksley 1996	
	1050	RFLP, Est	Pillen /et al./ 1996b	
	909	AFLP	Haanstra /et al./ 1999	
	19	SSR	Areshchenkova y Ganal, 1999	
	20	SSR	Areshchenkova y Ganal, 2002	
M82 × LA716	375	RFLP	Eshed y Zamir 1995	http://www.sgn.cornell.edu
	140	T-DNA	Gidoni /et al./ 2003	
	20	CAPs	Yang /et al./ 2004	
LA925 × LA716	2222	RFLP, CAPS, SSR, SNP, COS	Fulton /et al./ 2002b	http://www.sgn.cornell.edu , http://www.ncbi.nlm.nih.gov
	1579	CAPS, SSR	Frery /et al./ 2005	
Allround × LA716	77	RFLP, SSR	Arens /et al./ 1995	
	707	RFLP, AFLP	Haanstra /et al./ 1999	
	38	RFLP, SSR	Bai /et al./ 2004 ^a	
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. peruvianum</i> E6203 × LA1706	177	RFLP	Fulton /et al./ 1997	
Solentos × LA2157	5	RFLP, CAPS	Bonnema /et al./ 1997	
<i>S. lycopersicum</i> × <i>S. pimpinellifolium</i> M82 × LA1589	120	RFLP, RAPD	Grandillo y Tanksley, 1996a	http://www.sgn.cornell.edu
NC84173 × LA722	151	RFLP	Chen y Foolad, 1999	
E6203 × LA1589	127	RFLP	Doganlar /et al./ 2002c	http://www.sgn.cornell.edu
Sun1642 × LA1589	101	RFLP, CAPS	Yang /et al./ 2004	http://www.tomatomap.net
XF 98-7 × LA2184	112	SSR	Liu /et al./ 2005	
Rio Grande LA 1589	87	CAPS, SNP	Gonzalo y van der Knaap (no publicado)	
<i>S. peruvianum</i> × <i>S. peruvianum</i> LA2157 × LA2172	73	RFLP	Van Ooijen /et al./ 1994	http://www.ncbi.nlm.nih.gov
PI 128650 × PI128657	13	RFLP, RAPD	Pillen /et al./ 1996 ^a	

(47)

<http://www.sgn.cornell.edu>), muchos caracteres de importancia agrícola no segregaban en la misma población, y muchos marcadores de un mapa no eran polimórficos en otras poblaciones de tomate, principalmente, en aquellas derivadas de cruces entre variedades cultivadas o entre éstas y especies muy relacionadas, como *S. pimpinellifolium* L. y *S. cheesmaniae* (L. Riley) Fosberg, lo cual representa una limitante para la mejora.

La posibilidad de crear mapas intraespecíficos, a partir de cruces entre cultivares de tomate cultivado fue posible, recientemente, gracias a la explosión de información que se ha hecho accesible. Recientemente, han logrado construirlo mediante el desarrollo de marcadores SNPs, a partir de secuenciar clones de cADN (ESTs), obtenidos dentro del tomate cultivado (66). Estos SNPs se consideran la más abundante fuente de variación genómica, y ese elevado polimorfismo que detectan, los han convertido en una buena elección para la construcción de mapas de ligamiento en el tomate cultivado.

Esa estrategia de desarrollar mapas basándose en marcadores moleculares génicos, obtenidos a partir de secuencias informativas y de expresión, serán mucho más útiles para la identificación y uso de genes, incluidos los QTLs, de gran significación para la biología y la agricultura en general, y en particular, para la mejora de plantas. Esto es sólo el comienzo de lo que se pudiera lograrse con la integración de diferentes disciplinas, Mejora de plantas, Genómica, Genética, Bioinformática, entre otras, necesarias para la realización de la futura «Mejora inteligente» (*Smart Breeding*).

Una amplia y detallada metodología acerca de la construcción de mapas genéticos en especies diploides y poliploides ha sido publicada (67).

LA SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES EN LA MEJORA GENÉTICA DEL TOMATE

El surgimiento de diversos marcadores moleculares y los mapas de ligamiento saturados hizo posible encontrar asociaciones entre marcadores y fenotipos. Los mejoradores pueden usar una asociación conocida entre marcadores moleculares y un carácter de interés para seleccionar por la presencia del marcador molecular, en lugar de por el fenotipo del gen de interés. Este proceso es conocido como Selección Asistida por Marcadores (MAS, 68).

Si bien se avanzó de forma espectacular en los estudios de mapeo, diversidad genética, identificación de cultivares, entre otros, a partir de los marcadores de ADN, en primer lugar, los RFLPs que, a nuestro juicio, revolucionaron los estudios genéticos en plantas y, posteriormente, los AFLPs y RAPDs, que jugaron un extraordinario papel en la diseminación del empleo de los marcadores a numerosos laboratorios, estos no fueron empleados de forma práctica en los programas de selección, por su costo, no tener expresión de codominancia o, simplemente, no ser estables.

Estas características, bajo costo, expresión de codominancia y estar ligados de forma estable al gen de interés, son indispensables para la selección asistida, al menos, para la mejora de los cultivos que se reproducen por autogamia, como el tomate, ya que hay que practicar la selección en varias generaciones segregantes, a numerosas plantas, hasta obtener los nuevos cultivares. Es un hecho que los marcadores de isoenzimas cumplen con estos tres requisitos y, de hecho, fue uno de los primeros ejemplos prácticos del empleo de la MAS en el tomate.

Sin embargo, producto de la baja distribución de las isoenzimas en el genoma, no fue posible obtener muchos marcadores ligados a caracteres de interés, por lo que su

empleo se limitó a los escasos caracteres en que se encontraron marcadores ligados a estos. Como ejemplos, el marcador de fosfatasa ácida (*Aps-1'*), ligado al gen *Mi*; o al de androesterilidad, *Ms*, ligado con *Prx-2*, una peroxidasa; los que han sido empleados en la mejora práctica por mucho tiempo (69).

No fue una práctica rutinaria la MAS en los programas de mejora de las Empresas de Semilla y algunos centros públicos, hasta que contaron con marcadores basados en la PCR, como los marcadores SCARs y CAPs, diseñados a partir de numerosos RFLPs ya mapeados (51). Esta estrategia de los mejoradores moleculares, muy inteligente, a mi juicio, fue extendida también a los marcadores RAPDs y AFLPs, que estaban ligados a genes de interés y mapeados.

Muchos marcadores moleculares ligados a genes de interés en el mejoramiento del tomate han sido asociados, principalmente, a genes de resistencia a enfermedades, la mayoría, genes mayores (Tabla II).

Recientemente, algunos autores (70) compararon el empleo de marcadores moleculares y los ensayos biológicos en la selección de varios genes de resistencia en el tomate y llegaron a la conclusión de que, aunque hubo una respuesta correlacionada entre los resultados por ambos métodos, los marcadores mostraron superioridad en cuanto a poder distinguir las plantas heterocigóticas de las homocigóticas. Además de que los ensayos biológicos para evaluar la respuesta de las plantas a las enfermedades estudiadas, no siempre fueron confiables, debido a la influencia del ambiente y las dificultades propias de este tipo de evaluación.

Muchos de estos marcadores están siendo utilizados en la selección asistida de forma rutinaria por las compañías de semilla e investigadores de centros públicos (Tabla III) para obtener líneas que se serán empleadas en la obtención de híbridos o cultivares, la mayoría, para caracteres de herencia simple y algunos QTLs.

Tabla II. Marcadores accesibles para el mejoramiento del tomate relacionados con la resistencia a enfermedades

Enfermedades (patógenos)	Genes	Tipo de marcador	Referencias*
Alfamovirus			
<i>Alfalfa mosaic virus</i> (AMV)	<i>Am</i>	AFLP	Parrella <i>et al.</i> . 2004
Begomovirus			
<i>Tomato mottle virus</i> (ToMoV)	<i>Ty-3</i>	QTL, RAPD, SCAR, CAPS	Griffiths, 1998; Griffiths y Scott, 2001; Ji y Scott, 2005; Ji y Scott, 2006; Ji <i>et al.</i> . 2007
<i>Tomato yellow leaf curl virus</i> (TYLCV)	<i>Ty-1</i>	RFLP	Zamir <i>et al.</i> . 1994; Chagué <i>et al.</i> . 1997
	<i>Ty-2</i>	RFLP	Ji y Scott, 2005; Agrama y Scott, 2006
	<i>Ty-3</i>	RAPD, SCAR, CAPS QTL, RAPD	Hanson <i>et al.</i> . 2006; Ji y Scott, 2006 Ji <i>et al.</i> . 2007
Cucumovirus			
<i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV)	<i>Cmr</i>	RFLP	Stamova y Chetelat, 2000
Potyvirus			
<i>Potato virus Y</i> (PVY) y <i>Tobacco etch virus</i> (TEV)	<i>pot-1</i>	AFLP	Légnani <i>et al.</i> . 1997; Parrella <i>et al.</i> . 2002
Tobamovirus			
<i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV)	<i>Tm-1, Tm-2</i> ^{a(2)}	RFLP, RAPD, SCAR, CAPS	Tanksley <i>et al.</i> . 1992; Ohmori <i>et al.</i> . 1995a; Ohmori <i>et al.</i> . 1996; Lanfermeijer <i>et al.</i> . 2005
Hongos			
Alternariosis (<i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>lycopersici</i>)	<i>Asc</i>	RFLP	van der Biezen <i>et al.</i> . 1995; Stommel y Zhang, 1998; Mesbah <i>et al.</i> . 1999
Podredumbre de los frutos (<i>Colletotrichum coccodes</i>)		QTL, RAPD	Stommel y Zhang, 1998, 2001
Moho negro (<i>Alternaria alternata</i>)		QTL	Robert <i>et al.</i> . 2001
Raíces corchosas (<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>)	<i>py-1</i>	RFLP, QTL	Doganlar <i>et al.</i> . 1998
Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i>)		QTL	Foolad <i>et al.</i> . 2002; Zhang <i>et al.</i> . 2003; Foolad y Sharma, 2005
Podredumbre de las raíces (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>)	<i>Frl</i>	ligado al gen <i>Tm2</i> ²	Vakalounakis <i>et al.</i> . 1997
Fusariosis (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>)	<i>I, I-1, I-2, I-2C, I-3</i>	RFLP	Bournival <i>et al.</i> . 1990; Sarfatti <i>et al.</i> . 1991; Tanksley y Costello 1991; Ori <i>et al.</i> . 1997; Simons <i>et al.</i> . 1998
Mancha gris de la hoja (<i>Stemphyllium</i> spp.)	<i>Sm</i>	RFLP	Behare <i>et al.</i> . 1991
Tizón tardío (<i>Phytophthora infestans</i>)	<i>Ph-1, Ph-2, Ph-3, Ph-4</i>	QTL, RFLP	Pierce, 1971; Fray <i>et al.</i> . 1998; Moreau <i>et al.</i> . 1998; Chunwongse <i>et al.</i> . 2002; Brouwer y St. Clair, 2003; Brouwer <i>et al.</i> . 2004; Kole <i>et al.</i> . 2006
Moho foliar (<i>Cladosporium fulvum</i>)	<i>Cf-1, Cf-2, Cf-4, Cf-5, Cf-9</i>	RFLP	Jones <i>et al.</i> . 1993; Balint-Kurti <i>et al.</i> . 1994; Lauge <i>et al.</i> . 1998
Moho polvoriento (<i>Leveillula taurina</i> y <i>Oidium neolycopersici</i>)	<i>Lv, Ol-1, ol-2, Ol-3, Ol-4, Ol-5</i>	RFLP, PCR, RFLP, SCAR, CAPS, AFLP	Chunwongse <i>et al.</i> . 1994; van der Beek <i>et al.</i> . 1994; Huang <i>et al.</i> . 2000; Bai <i>et al.</i> . 2003; De Giovanni <i>et al.</i> . 2004
Marchitez por Verticillium (<i>Verticillium dahliae</i> y <i>V. albo-atrum</i>)	<i>Ve</i>	RFLP, SCAR	Schaible <i>et al.</i> . 1951; Kawchuk <i>et al.</i> . 1998; Diwan <i>et al.</i> . 1999
Bacterias			
Cáncer bacteriano (<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>Michiganensis</i>)		QTL, <i>Rcm2.0</i> y <i>Rcm 5.1</i>	van Heusden <i>et al.</i> . 1999; Kabelka <i>et al.</i> . 2002; Coaker y Francis, 2004
Mancha bacteriana (<i>Xanthomonas</i> sp)		QTL	Yu <i>et al.</i> . 1995; Yang <i>et al.</i> . 2005b; Astua-Monge <i>et al.</i> . 2000; Ballvora <i>et al.</i> . 2001; Yang <i>et al.</i> . 2005a
Mancha bacteriana (<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>)	<i>Pto</i>	ligado a los genes <i>Prf</i> y <i>Fen</i>	Martin <i>et al.</i> . 1993b; Salmeron <i>et al.</i> . 1996
Marchitez bacteriana (<i>Ralstonia solanacearum</i>)		QTL	Danesh <i>et al.</i> . 1994, Thoquet <i>et al.</i> . 1996a, Thoquet <i>et al.</i> . 1996b, Mangin <i>et al.</i> . 1999, Wang <i>et al.</i> . 2000, Carmeille <i>et al.</i> . 2006, Carmeille <i>et al.</i> . 2006
Nematodos			
Agallamiento de las raíces (<i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. arenaria</i>)	<i>Mi, Mi-1, Mi-3, Mi-9</i>	-	-
Potato cyst nematode (<i>Heterodera rostochiensis</i>)	<i>Hero</i>	-	-

Tabla III. Caracteres conocidos para los cuales se practica de forma rutinaria la selección asistida por marcadores en los programas de mejora del tomate

Carácter	Gen/QTL (Q)	Especies de las que proviene	Referencias ¹
Cáncer bacteriano	3 Q <i>Rcm2.0, Rcm5.1(Q)</i>	<i>L. peruvianum</i> ; <i>L. hirsutum</i>	Compañías de semilla, Coaker and Francis, 2004
Mancha bacteriana	<i>Pto</i>	<i>L. pimpinellifolium</i>	Compañías de semilla, Yang and Francis, 2005
Mancha bacteriana	<i>Rx-3 (Q)</i>	<i>L. esculentum</i>	Yang and Francis, 2005
Marchitez bacteriana	2 Q	<i>L. esculentum</i>	Compañías de semilla
Moho negro (<i>Alternaria alternata</i>)	Algunos Q	<i>L. cheesmanii</i>	Robert et al., 2001
Raíces corchosas (<i>Pirenochaeta</i>)	<i>Py-1</i>	<i>L. peruvianum</i>	Compañías de semilla
Fusariosis	<i>I-2C, I-3</i>	<i>L. pimpinellifolium</i>	Compañías de semilla y mejoradores públicos
Desprendimiento del pedúnculo (jointless)		<i>L. cheesmanii</i>	Compañías de semilla
Tizón tardío	<i>Ph-3</i> 4 Q	<i>L. pimpinellifolium</i> <i>L. hirsutum</i>	Compañías de semilla y mejoradores públicos Brouwer and St. Clair 2004)
Contenido de licopeno	<i>Ogc, cr</i>	<i>L. esculentum</i>	Compañías de semilla
Moho polvoriento	<i>Lv</i> <i>Ol-1, ol-2</i>	<i>L. chilense</i> <i>L. hirsutum</i>	Compañías de semilla
Inhibidor maduración frutos	<i>rin</i>	<i>L. cheesmanii</i>	Compañías de semilla
Nemátodos de las agallas	<i>Mi</i>	<i>L. peruvianum</i>	Compañías de semilla y mejoradores públicos
Crecimiento determinado		<i>L. esculentum sp</i>	Compañías de semilla y mejoradores públicos
Sólidos solubles	Q	Desconocido	Compañías de semilla
<i>Tomato spotted wild virus</i>	<i>Sw-5</i>	<i>L. peruvianum</i>	Compañías de semilla
<i>Tomato yellow leaf curl virus</i>	Algunos Q <i>Ty-1*</i>	Diferentes especies <i>S. chilense</i>	Compañías de semilla
<i>Tobacco mosaic virus</i>	<i>Tm-2^a</i>	<i>L. peruvianum</i>	Compañías de semilla
Marchitez por <i>Verticillium</i>	<i>Ve</i>	<i>L. esculentum</i>	Compañías de semilla y mejoradores públicos

¹La información sobre las compañías de semilla y mejoradores públicos es anónima, según el propio autor (8);

* (71)

El empleo de estos marcadores en el proceso rutinario de un programa de mejora, no solamente acelera el proceso de transferencia génica, sino también permite combinar («piramiding») diferentes genes deseables provenientes de diversas fuentes, con el objetivo de elevar el nivel de expresión del carácter de interés, desechar los genes que no interesan, sobre todo, cuando el donante es una especie silvestre y recuperar con más rapidez y efectividad el genoma del parental recurrente.

La MAS ha sido poco empleada para los QTLs en caracteres complejos o se ha obtenido poca efectividad (8), debido a que muchas dificultades permanecen aun sin resolver para su aplicación, de forma rutinaria (72). Es reconocida por muchos autores la necesidad de refinar la localización de los QTLs, profundizar en las bases genéticas de tales caracteres y la interrelación con otros

caracteres y desarrollar nuevas herramientas para el diseño de programas más eficientes (24).

Numerosos esfuerzos se están haciendo para el mapeo de caracteres complejos a partir de la localización de QTLs. Es asombroso la cantidad de QTLs que ya han sido mapeados en los últimos años. Una revisión completa de marcadores QTLs ligados a la calidad de los frutos, la resistencia /tolerancia a los estreses de frío, sequía y salinidad, la floración, los frutos y el rendimiento, así como otras características de interés, está publicada (3, 8).

Sin embargo, la mayoría de estos no están accesibles para ser utilizados de forma rutinaria en los programas de mejora. Las razones para que exista un número limitado de reportes publicados sobre el empleo de los QTLs, es que cuando se registra el producto 'final' de la mejora, que son los cultivares o híbridos, no se expone

detalladamente el procedimiento del uso de los marcadores de ADN durante el proceso de obtención, sobre todo, por la competencia con otras compañías de semilla (9).

El alto costo de la MAS continuará siendo un obstáculo para la adopción de esta en los programas de mejora, sobre todo, en los países en vías de desarrollo, por lo que estos deberán crear las capacidades para la aplicación de estas tecnologías y trazar estrategias específicas para algunos cultivos (24). También, la importancia del cultivo determina su amplitud de empleo, mientras que el uso de marcadores de ADN es rutinario en los cultivos de maíz, arroz y soya, no lo es así en cultivos hortícolas (10).

En la actualidad, existe una gran fortaleza técnica que ha permitido avanzar en el 'genotipado y 'fenotipado' de los principales cultivos de importancia agrícola, entre los que

se encuentra el tomate. Sin embargo, el éxito de MAS a escala particular de los programas de mejora dependen, como se ha podido apreciar, de muchos factores críticos, como el número de genes de interés a ser transferidos, la distancia entre éstos y los marcadores que lo flanquean, el número de genotipos a seleccionar en cada generación, el tipo de cultivo y las facilidades de laboratorio para el trabajo con los marcadores.

Hay autores que plantean la necesidad de una mayor explotación de la plataforma bioinformática existente y desarrollar métodos que permitan integrar las grandes bases de datos de los sistemas biológicos (25).

Otra dificultad que afrontan los mejoradores es que, a pesar de lo logrado en la saturación de mapas de alta densidad en muchas especies, solamente unos pocos *loci* de genes importantes han sido reportados con la documentación suficiente para reproducir la localización de éstos o, simplemente, faltan los trabajos de ligamiento que deben existir entre el marcador informado y su aplicación.

En resumen, la explotación de las potencialidades de la MAS está aun limitada en los programas de mejora, en particular, por los grupos de mejora de centros públicos, lo cual se agrava en los países en vías de desarrollo. Los avances logrados, en su mayoría, han sido monopolizados por las empresas privadas de semilla, para la obtención de cultivares e híbridos, cuya documentación e informe permanecen, en la mayor parte de los casos, en el anonimato. No obstante, los avances obtenidos en algunos cultivos, como la papa, el tomate y la berenjena, en el caso de las Solanáceas, así como los avances tecnológicos obtenidos en los estudios genéticos del hombre y de *Arabidopsis*, como planta modelo, constituyen una gran promesa para los mejoradores en el futuro inmediato.

En Cuba, se ha empleado por algunos mejoradores de tomate los marcadores como apoyo a la mejora genética del tomate, en la selección de progenitores por su resistencia al

'Virus del encrespamiento amarillo de la hoja de tomate' (*Tomato Yellow Leaf Curl Virus*, TYLCV) (73) y para la selección asistida por el marcador *Aps 1¹*, ligado al gen *Mi*, que confiere resistencia a algunas de las especies de nemátodos del género *Meloidogyne* en la obtención de cultivares resistentes (29).

A pesar de que no toda la información está disponible, con la que existe, y el hecho de que cada día se abaratan más los costos para asistir la selección de los genotipos, más que de los fenotipos; se puede lograr el incremento de la eficiencia de los programas de mejora en centros públicos no competitivos. Para ello, se requiere aunar esfuerzos a nivel local y regional; la formación de redes, beneficiaría, con mucho, la asimilación de este tipo de tecnologías. Compartir información, instalaciones, personal, e inclusive, materiales genéticos, sería una buena oportunidad para los países en desarrollo que no cuentan con toda la infraestructura necesaria o el personal capacitado.

GLOSARIO DE LAS ABREVIATURAS MÁS EMPLEADAS EN EL TEXTO

ADN (Ácido desoxirribonucleico; DNA, «Deoxyribonucleic acid»)

AFLP (Polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados, «Amplified Fragment Length Polymorphism»)

CAPS (Secuencia polimórfica amplificada y digerida, «Cleaved Amplified Polymorphic Sequence»)

EST (Etiquetas de secuencias expresadas, «Expressed Sequence Tag»)

GMMs («Genic Molecular Markers»)

MAS (Selección asistida por marcadores, «Marker-Assisted Selection»)

PCR (Reacción en cadena de la polimerasa, «Polymerase Chain Reaction»)

QTL (*locus* de carácter cuantitativo, «Quantitative Trait Locus»)

RAPD (Polimorfismo del ADN amplificado al azar, «Random Amplified Polymorphic DNA»)

RDMs («Random DNA Markers»)

RFLP (Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción, «Restriction Fragment Length Polymorphism»)

SCAR (Región amplificada y caracterizada secuencialmente, «Sequence Characterized Amplified Region»)

SGN (Red Genómica SOL, «SOL Genomics Network»)

SNP (Polimorfismo de nucleótidos simples, «Single Nucleotide Polymorphism»)

SSR (Microsatélites, «Simple Sequence Repeats»)

STR (Microsatélites, «Short Tandem Repeats»)

STS («Sequence-Tagged Sites»)

REFERENCIAS

1. Peralta, I. E. y Spooner, D. M. Relationships and morphological characterisation of wild tomatoes (*Solanum* L. section *Lycopersicon* Mill. Wettst. subsection *Lycopersicon*). *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Garden*, 2005, p. 227-257.
2. Miller, J. C. y Tanksley, S. D. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor. Appl. Genet.*, 1990, vol. 80, p. 437-448.
3. Foolad, M. R. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2007, vol. 52, Article ID 64358.
4. Díez, M. J. y Nuez, F. *Tomato*. En: Prohens, J and Nuez, F. *Handbook of plant Breeding*. Valencia: Ed. Springer, 2008. p. 249-323.
5. Nuez, F.; Carrillo, J. M. y de Ron, A. M. Problemas básicos de la mejora vegetal. En: F y Carrillo, J. M. (eds.), *Los marcadores genéticos en la mejora vegetal*. Ed. Universidad Politécnica de Valencia. 2000, 579 p.
6. Borém, A. y Caixeta, E. T. Marcadores moleculares. Ed. Folha de Viosa, eds. A. Borém y E. T. Caixeta. 2009. 532 p.

7. Varshney, R. K.; Mahendar, Th.; Aggarwal, R. K. y Borner, A. Genic Molecular Markers in plants: Development and Applications, ch.2. In: Genomics-Assisted Crop Improvement: vol. 1: Genomics Approaches and Platforms, 13-29. Ed. Springer, R. K. Varshney and R. Tuberosa (eds.). 2007.
8. Foolad, M. R. y Sharma, A. Molecular markers as selection tools in tomato breeding. *Acta Hort.*, 2005, vol. 695, p. 225-240.
9. Collard, B. C. Y. y Mackill, D. J. Marker assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 2008, vol. 363, p. 557-572.
10. Ibitoye, D. O. y Akin-Idowu, P. E. Marker-assisted-selection (MAS): A fast track to increase genetic gain in horticultural crop breeding. *African Journal of Biotechnology*, 2010, vol. 9, no. 52, p. 8889-8895.
11. Mueller, L. A.; Solow, T.; Taylor, N.; Skwarecki, B.; Buels, R.; Binns, J.; Lin, C.; Wright, M.; Ahrens, R.; Wang, Y.; Herbst, E.; Keyder, E.; Menda, N.; Zamir, D. y Tanksley, S. D. The SOL Genomics Network. A comparative resource for *Solanaceae* biology and beyond. *Plant Physiol.*, 2005, vol. 138, p. 1310-1317.
12. Paul, D. B. y Kimmelman, B. A. Mendel in America: theory and practice. En: R Rainger, K. R. Benson, J. Maienschien, eds, *The American Development of Biology*. Philadelphia : University of Pennsylvania Press, 1988, p. 281-310.
13. Baenziger, P. S.; Russell, W. K.; Graef, G. L. y Campbell, B. T. Improving lives: 50 years of crop breeding, genetics, and cytology (C-1). *Crop Sci.*, 2006, vol. 46, p. 2230-2244.
14. Jauhar, P. Modern biotechnology as an integral supplement to conventional plant breeding: the prospects and challenges. *Crop Sci.*, 2006, vol. 46, p. 1841-1859.
15. Sharma, H. C.; Crouch, J. H.; Sharma, K. K.; Seetharama, N. y Hash, C. T. Applications of biotechnology for crop improvement: prospects and constraints. *Plant Sci.*, 2002, vol. 163, p. 381-395.
16. Bevan, M. W.; Flavell, R. B. y Chilton, M. D. A chimaeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation. *Nature*, 1983, vol. 304, p. 184-187.
17. Fraley, R. T.; Rogers, S. G.; Horsch, R. B.; Sanders, P. R.; Flick, J. S.; Adams, S. P.; Bittner, M. L.; Brand, L. A.; Fink, C. L. y Fry, J. S. Expression of bacterial genes in plant cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983, vol. 80, p. 4803-4807.
18. Herrera-Estrella, L.; Depicker, A.; van Montagu, M. y Schell, J. Expresión of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid derived vector. *Nature*, 1983, vol. 303, p. 209-213.
19. Koziel, T. M.; Beland, G. L.; Bowman, C.; Carozzi, N. B.; Crenshaw, R.; Crossland, L.; Dawson, J.; Desai, N.; Hill, M.; Kadwell, S. /et al./ Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Biotechnology (N Y)*, 1993, vol. 11, p. 194-200.
20. Delannay, X.; Baumann, T. T.; Beighley, D. H.; Buettner, M. J.; Coble, H. D.; Defelice, M. S.; Derting, C. W.; Diedrick, T. J.; Griffin, J. L. y Hagood, E. S. Yield evaluation of a glyphosate-tolerant soybean line after treatment with glyphosate. *Crop Sci.*, 1995, vol. 35, p. 1461-1467.
21. Paterson, A. H.; Lander, E. S.; Hewitt, J. D.; Peterson, S.; Lincoln, S. E. y Tanksley, S. D. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature*, 1988, vol. 335, p. 721-726.
22. Ragot, M.; Biasioli, M.; Delbut, M. F.; Dell'Orco, A.; Malgarini, L.; Thevenin, P.; Vernoy, J.; Vivant, J.; Zimmermann, R. y Gay, G. Marker-assisted backcrossing: a practical example. En: A Berville, M Tersac, eds, *Les Colloques*, No. 72, Techniques et Utilisations des Marqueurs Moleculaires. Paris : INRA, p. 45-56, 1995.
23. Johnson, G. R. y Mumm, R. H. Marker assisted maize breeding. En: *Proceedings of the 51st Corn and Sorghum Conference*. American Seed Trade Association, Washington, DC, 1996, p. 75-84.
24. Xu, Y. y Crouch, J. H. Marker-Assisted Deletion in Plant Breeding: From publications to practice. *Crop Sci.*, 2008, vol. 48, p. 391-407.
25. Barone, A.; Di Matteo, A.; Carputo, D. y Frusciante, L. High-Throughput Genomics Enhances Tomato Breeding Efficiency. *Curr Genomics*, 2009, vol. 10, no. 1, p. 1-9.
26. Griffiths, A. F.; Miller, J. H.; Suzuki, D. T.; Lewontin, R. C.; Gelbart, W. M. /et al./ An introduction to genetic analysis. 1993. Fifth edition, Ed. Freeman, W. H. and Company/New York.
27. Staub, J. E.; Serquen, F. C. y Gupta, M. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hort Science*, 1996, vol. 31, p. 729-741.
28. Pérez de la Vega, M. El uso de marcadores moleculares en genética vegetal y mejora. *Invest. Agr. Prod. Prot. Veg.* 1997, vol. 12, no. 1, 2 y 3, p. 31-60.
29. Alvarez, M.; Lara, R. M.; Rodríguez, J.; Fernández-Muñoz, R. y Cuartero, J. Incorporación del gen *Mi* a variedades de tomate mediante el marcador *Aps-1*¹. *Cultivos Tropicales*, 2006, vol. 27, no. 3, p. 69-73.
30. Botstein, D.; White, R. L.; Skolnick, M. y Davis, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.*, 1980, vol. 32, p. 314-331.
31. Bernatzky, R. y Tanksley, S. D. Towards a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics*, 1986, vol. 112, p. 887-898.
32. Tanksley, S. D.; Ganai, M. W.; Prince, J. P. /et al./ High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics*, 1992, vol. 132, no. 4, p. 1141-1160.
33. Williams, J. G. K.; Kubelik, A. E.; Levak, K. J.; Rafalski, J. A. y Tingey, S. C. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.*, 1990, vol. 18, p. 6531-6535.
34. Peleman, J. D. y van der Voort, J. R. Breeding by design. *Trends in Plant Sciences*, 2003, vol. 8, no. 7.

35. Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; van de Lee, T.; Hornes, M.; Frijters, A.; Pot, J.; Peleman, J.; Kuiper, M. y Zabeau, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.*, 1995, vol. 23, p. 4407-4414.
36. Tautz, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucl. Acids Res.*, 1989, vol. 17, p. 6463-6471.
37. He, C.; Poysa, V. y Yu, K. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 2003, vol. 106, p. 363-373.
38. Haanstra, J. P.; Wye, C.; Verbakel, H.; Meijer-Dekens, F.; van den Berg, P.; Odinot, P.; van Heusden, A. W.; Tanksley, S.; Lindhout, P.; Peleman, J. *et al.* An integrated high-density RFLP- AFLP map of tomato based on two *Lycopersicon esculentum* × *L. pennelli* F2 populations. *Theor. Appl. Genet.*, 1999, vol. 99, p. 254-271.
39. Chen, G. Q. y Foolad, M. R. A molecular linkage map of tomato based on a cross between *Lycopersicon esculentum* and *L. pimpinellifolium* and its comparison with other molecular maps of tomato. *Genome*, 1999, vol. 42, p. 94-103.
40. Landegren, U.; Nilsson, M. y Kwok, P. Y. Reading bits of genetic information: Methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Res.*, 1998, vol. 8: 769-776.
41. Paran, I. y Michelmore, R. W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genet.*, 1993, vol. 85, p. 985-993.
42. Konieczny A. Ausubel F. A. A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant J.*, 1993, vol. 4, p. 403-410.
43. Adams, M. D.; Kelley, J. M.; Gocayne, J. D.; Dubnick, M.; Polymeropoulos, M. H.; Xiao, H.; Cerril, C. R.; Wu, A.; Olde, B.; Moreno, R. F.; Kerlavage, A. R.; McCombie, W. R. y Venter, J. C. Complementary DNA sequencing: Expressed sequence tags and human genome project. *Science*, 1981, vol. 252, p. 1651-1656.
44. Moore, S.; Vrebalov, J.; Payton, P. y Giovannoni, J. Use of genomics tools to isolate key ripening genes and analyse fruit maturation in tomato. *J. Exp. Bot.*, 2002, vol. 53, p. 2023-2030.
45. van der Hoeven, R.; Ronning, C.; Giovannoni, J.; Martin, G. y Tanksley, S. Deductions about the number, organization, and evolution of genes in the tomato genome based on analysis of a large expressed sequence tag collection and selective genomic sequencing. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, p. 1441-1456.
46. Fei, Z.; Tang, X.; Alba, R. M.; White, J. A.; Ronning, C. M.; Martin, G. B.; Tanksley, S. D. y Giovannoni, J. J. Comprehensive EST analysis of tomato and comparative genomics of fruit ripening. *Plant J.*, 2004, vol. 40, p. 47-59.
47. Labate, J. A.; Grandillo, S.; Fulton, T.; Muñoz, S.; Caicedo, A. L.; Peralta, I.; Ji, Y.; Chetelat, R. T.; Scott, J. W.; Gonzalo, M. J. *et al.* Tomato. En: *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*, Volume 5, vegetables, cap. 1, p. 1-95. Series Editor: Chittaranjan Kole, Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2007.
48. Fulton, T. M.; van der Hoeven, R.; Eanetta, N. T. y Tanksley, S. D. Identification, analysis, and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, p.1457-1467.
49. Tsugane, T.; Watanabe, M.; Yano, K.; Sakurai, N.; Suzuki, H. y Shibata, D. Expressed sequence tags of full-length cDNA clones from the miniature tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivar Micro-Tom. *Plant Biotechnol. J.*, 2005, vol. 22, p.161-165.
50. Wheeler, D. L.; Barrett, T.; Benson, D. A.; Bryant, S. H.; Canese, K.; Chetvernin, V.; Church, D. M.; DiCuccio, M.; Edgar, R.; Federhen, S.; Geer, L. Y.; Helmsberg, W.; Kapustin, Y.; Kenton, D. L.; Khovayko, O.; Lipman, D. J.; Madden, T. L.; Maglott, D. R.; Ostell, J.; Pruitt, K. D.; Schuler, G. D.; Schriml, L. M.; Sequeira, E.; Sherry, S. T.; Sirotkin, K.; Souvorov, A.; Starchenko, G.; Suzek, T. O.; Tatusov, R.; Tatusova, T. A.; Wagner, L. y Yaschenko, E. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucl. Acids Res.*, 2006, vol. 34, p. D173-D180.
51. Bai, Y.; Feng, X.; van der Hulst, R. y Lindhout, P. A set of simple PCR markers converted from sequence specific RFLP markers on tomato chromosomes 9 to 12. *Mol. Breed.*, 2004, vol. 13, p. 281-287.
52. 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, p. 29-40.
53. Ruiz, J. J.; García-Martínez, S.; Picó, B.; Gao, M. y Quiros, C. F. Genetic variability and relationship of closely related Spanish traditional cultivars of tomato as detected by SRAP and SSR markers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 2005, vol. 130, p. 88-94.
54. Baldo, A. M.; Wan, Y.; Lamboy, W. F.; Simon, C. J. y Labate, J. A. Sheffer SM SNP validation and genetic diversity in cultivated tomatoes and grapes. *Plant & Animal Genomes XV Conference*. USDA, San Diego, CA, 2007, p. 171.
55. Ganai, M. W.; Durstewitz, G.; Kulosa, D.; Luerksen, H.; Polley, A. y Wolf, M. Development of EST-derived SNP markers for plant breeding. *Plant & Animal Genomes XV Conference*. USDA, San Diego, CA, 2007, p. 172.
56. Sim, S. C.; Yang, W.; van der Knaap, E.; Hogenhout, S.; Xiao, H. y Francis, D. M. Microarray-based SNP discovery for tomato genetics and breeding. *Plant & Animal Genomes XV Conference*. USDA, San Diego, CA, 2007, p. 173.
57. Rick, C. M. The tomato. *Scientific American*, agosto, 1978.

58. Butler, L. Linkage summary. *Tomato Genet. Coop.*, 1968, Rep. 18, p. 4-6.
59. Tanksley, S. D. y Rick, C. M. Isozyme gene linkage map of tomato: Applications in genetics and breeding. *Theor. Appl. Genet.*, 1980, vol. 57, p.161-170.
60. Stevens, M. A. y Rick, C. M. Genetics and breeding. En: J. G. Atherton and J. Rudich (eds) *The Tomato Crop*. Chapman and Hall, New York, USA, 1986, p. 35-109.
61. Tanksley, S. D. Linkage map of the tomato (*Lycopersicon esculentum*) (2N=24). En: O'Brian S. J. (ed) *Genetic Maps: Locus Maps of Complex Genomes*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 1993, p. 6.3-6.15.
62. Tanksley, S. D.; Ganai, M. W.; Prince, J. P.; De Vicente, M. C.; Bonierbale, M. W.; Broun, P.; Fulton, T. M.; Giovannoni, J. J.; Grandillo, S.; Martin, G. B.; Messeguer, R.; Miller, J. C.; Miller, L.; Paterson, A. H.; Pineda, O.; Röder, M. S.; Wing, R. A.; Wu, W. y Young, N. D. High-density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics*, 1992, vol. 132, p. 1141-1160.
63. Pillen, K.; Pineda, O.; Lewis, C. y Tanksley, S. D. Status of genome mapping tools in the taxon *Solanaceae*. En: Paterson AH (eds) *Genome Mapping in Plants*. R G Landes, Austin, Texas, USA, p. 281-308, 1996.
64. Sharma, A.; Zhang, L.; Liu, D. N.; Ashrafi, H. y Foolad M. R. A *Solanum lycopersicum* x *Solanum pimpinellifolium* linkage map of tomato displaying genomic locations of R-genes, RGAs and candidate resistance/defense-response ESTs. *International Journal of Plant Genomics*, 2008, vol. 1.
65. Druka A.; Potokina E.; Luo, Z.; Jiang, N.; Chen, X.; Kearsley, M. y Waugh, R. Expression quantitative trait loci analysis in plants. *Plant Biotechnol. J.*, 2010; vol. 8, no. 1, p. 10-27.
66. Shirasawa, K.; Isobe, S.; Hirakawa, H.; Asamizu, E.; Fukuoka, H.; Just, D.; Rothan, C.; Sasamoto, S.; Fujishiro, T.; Kishida, H.; Kohara, S.; Tsuruoka, H.; Wada, T.; Nakamura, Y.; Sato, S. y Tabata, S. SNP Discovery and Linkage Map Construction in Cultivated Tomato. *DNA Research*, 2010, p. 1-11.
67. Cornides, M. T. *et al.*. Marcadores moleculares, nuevos horizontes en la genética y la selección de las plantas. Editorial Félix Varela, 2002, 367 p.
68. Bai, Y. y Lindhout, P. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future?. *Annals of Botany*, 2007, vol. 100, p. 1085-1094.
69. Cubero, J. I. Introducción a la mejora genética vegetal. Ediciones Mundi-Prensa, 2da. Edición revisada y ampliada, 2003, 567 p.
70. Arens, P.; Mansilla, C.; Deinum, D.; Cavellini, L.; Moretti, A.; Rolland, S.; Van der Schoot, H.; Calvache, D.; Ponz, F.; Collonnier, C.; Mathis, R.; Smilde, D.; Caranta, C. y Vosman, B. Development and evaluation of robust molecular markers linked to disease resistance in tomato for distinctness, uniformity and stability testing. *Theor Appl Genet.*, 2010, vol. 120, no. 3, p. 655-664.
71. Scott, J. M. Breeding for resistance to viral pathogens. In: Genetic improvement of Solanaceous crops, vol. 2: Tomato. Ed. Science Publishers, editors Razdan, M. K. and Mattoo, A. K., 2007, p. 457-485.
72. Holland, J. B. Implementation of molecular markers for quantitative traits in breeding programs- Challenges and opportunities. En: T. Fischer (ed.) *New directions for a diverse planet*. 2004. Proc. of the 4th Int. Crop Science Congress, Brisbane, QLD, Australia. 26 sept.- 1 oct. 2004.
73. Piñón, M. Obtención de líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) resistentes al virus del encrepamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV) en Cuba. [Tesis de Doctorado] en Ciencias Agrícolas, Instituto de Investigaciones Hortícolas Lilibiana Dimitrova (IIHLD), Mayabeque, Cuba. 2009, 126 p.

Recibido: 29 de junio de 2010
Aceptado: 23 de mayo de 2011

¿Cómo citar?

Álvarez Gil, Marta. La selección asistida por marcadores (MAS, «Marker-Assisted Selection») en el mejoramiento genético del tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales*, 2011, vol. 32, no. 3, p. 46-58. ISSN 0258-5936