

CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA Y BIOQUÍMICA DE 20 ACCESIONES DE TOMATE (*Lycopersicon* spp)

Marilyn Florido[✉], Marta Álvarez, Regla M. Lara, Dagmara Plana, M. Varela, T. Shagardosky y C. Moya

ABSTRACT. The present work was developed at The National Institute of Agricultural Sciences (INCA), with the objective of carrying out the morphoagronomic and isoenzymatic characterization of 20 tomato accessions including commercial varieties and wild species of *L. esculentum* var. cerasiforme, *L. pimpinellifolium* and *L. hirsutum*. For its development, different morphoagronomic characters like type of growth, flowers per inflorescence, fruiting percentage and those related with fruit characteristics were evaluated. The data obtained were submitted to statistical univariate and multivariate methods. Also, electrophoretic analyses of Prx, Est, Ppo, Dia, Mdh, Fdh, AO and AC were performed. The existence of genetic variability in morphoagronomic characteristics within the collection was detected which enabled to prepare four essential groups of accessions in which fruiting percentage, weight color and shape of mature fruit were the most contributive indicators to this grouping. However, electrophoretic studies showed a few polymorphism due to a high degree homology existing on *Lycopersicon* genus.

RESUMEN. El presente trabajo se desarrolló en áreas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), con el objetivo de realizar la caracterización morfoagronómica e isoenzimática de 20 accesiones de tomate incluidas variedades comerciales y especies silvestres de *L. esculentum* var. cerasiforme, *L. pimpinellifolium* y *L. hirsutum*. Para su desarrollo, se evaluaron diferentes caracteres morfoagronómicos como tipo de crecimiento, número de flores por inflorescencia, porcentaje de fructificación y aquellos relacionados con las características de los frutos. Se realizaron además los análisis electroforéticos de proteínas totales e isoenzimas peroxidasa (Prx), esterasas (Est), polifenol oxidasas (Ppo), diaforasas (Dia), malato deshidrogenasa (Mdh), formiato deshidrogenasa (Fdh), ascorbato oxidasa (AO) y anhidrasa carbónica (AC). Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis estadístico univariado y multivariado. Se pudo detectar la existencia de variabilidad genética dentro de la colección en cuanto a características morfoagronómicas, lo que permitió unir estas accesiones en cuatro grupos fundamentales, donde los indicadores porcentaje de fructificación, peso, color y forma del fruto maduro, fueron los que más contribuyeron a este agrupamiento. Los estudios electroforéticos mostraron, por su parte, muy poco polimorfismo, lo que da una medida del alto grado de homología existente dentro del género *Lycopersicon*.

Key words: *Lycopersicon*, tomato, genetic resources, genetic variation, electrophoresis, isozymes

Palabras clave: *Lycopersicon*, tomate, recursos genéticos, variación genética, electroforesis, isoenzimas

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) es la hortaliza más importante en numerosos países, siendo la base de una fundamental industria agraria, por lo que su popularidad aumenta constantemente como consecuencia de una demanda creciente, derivada de su papel esencial en los hábitos alimenticios de una amplia parte de la

población mundial (1), alcanzando en el año 1997 una producción superior a 88 000 000 toneladas métricas (2).

De ahí que resulte de gran importancia para Cuba incrementar la variabilidad genética en el cultivo, mediante un programa de mejoramiento encaminado a la búsqueda de variedades resistentes a las altas temperaturas y humedad de los trópicos, así como a las principales plagas y enfermedades que se presentan en estas condiciones (3).

Como se sabe, todo programa de mejoramiento genético comienza con la introducción masiva de germoplasma de diversos orígenes, a fin de evaluarlos y detectar los de mayor interés para utilizarlos como posibles parentales en la mejora (4).

En este sentido, se ha señalado la utilidad que brindan las especies silvestres en el desarrollo de variedades de tomate, pues constituyen una valiosa fuente de genes para la tolerancia a estrés bióticos y abióticos, que en su

Ms.C. Marilyn Florido, Investigador Agregado; Dr.C. Marta Álvarez, Investigador Titular; Regla M. Lara, Especialista; Ms.C. Dagmara Plana, Investigadora y Dr.C. C. Moya, Investigador Titular del Departamento de Genética y Mejoramiento de las Plantas; Dr.C. M. Varela, Investigador Agregado del Departamento de Matemática Aplicada, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, CP 32 700 y T. Shagardosky, Investigador Agregado del Departamento de Genética y Mejoramiento, Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT) «Alejandro de Humboldt», calle 1 esquina a 2, Santiago de las Vegas, La Habana, Cuba.

✉ mflorido@inca.edu.cu

mayoría pueden ser transferidos a las especies cultivadas, dado el alto grado de homología genómica existente en el género *Lycopersicon* (4, 5, 6).

Es por todo lo antes expuesto que se realizó el presente trabajo, con el objetivo de valorar el grado de diversidad existente en un grupo de accesiones de tomate procedentes de los bancos de germoplasma del INCA e INIFAT, atendiendo a caracteres morfológicos, agronómicos y bioquímicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización morfoagronómica del germoplasma. El presente estudio se realizó durante la campaña de invierno (diciembre-mayo, 1998), en el área central del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Para su desarrollo se empleó una representación de 20 variedades y especies silvestres de tomate (Tabla I), sembradas en canteros que contenían mezclas de suelo Ferralítico Rojo (7) y materia orgánica en proporción 3:1, las cuales se clasificaron según IPGRI (8).

Tabla I. Accesiones estudiadas y su procedencia

Especie	Accesión	Procedencia
<i>L. esculentum</i> var. cerasiforme	1. ES-90	Ecuador
	2. P531	Cuba
	3. PE-62	Perú
	4. LA-2871	EEUU
	5. Nagcarlang	Filipinas
	6. Mex-12	México
	7. West Virgin	Ecuador
<i>L. esculentum</i>	8. Ottawa-30	Canadá
	9. P-1410	Cuba
	10. L-10-3	Cuba
	11. INCA 9(1)	Cuba
	12. Roma	Italia
	13. Mariela	Cuba
	14. Tropical M-10	Cuba
	15. Campbell-28	EEUU
	16. INCA-17	Cuba
	17. HC-3880	Cuba
	18. Amalia	Cuba
<i>L. pimpinellifolium</i>	19. PE-15	Perú
<i>L. hirsutum</i>	20. PE-39	Perú

Las atenciones culturales en todos los casos se efectuaron según las normas técnicas del cultivo (9), evaluándose en 10 plantas por accesión un grupo de caracteres, entre los que se encuentran: tipos de crecimiento, hojas e inflorescencias, volumen del follaje y número de flores por inflorescencia. Se tomaron además 10 frutos por accesión, a los que se les evaluaron diversos caracteres, como su forma longitudinal, coloración del fruto maduro y verde, intensidad de color y forma del hombro, capa de abscisión, número de lóculos, acostillado y forma de la cicatriz peduncular y estilar.

Se realizaron asimismo determinaciones del peso promedio de los frutos, diámetros longitudinal y ecuatorial y el porcentaje de fructificación (convertido a $\arcsen \sqrt{\%}$ para el análisis estadístico e informado su valor real). Los

datos de estas últimas evaluaciones se sometieron a análisis de varianza de clasificación simple, modelo de efectos fijos y se docimaron las medias por pruebas de Duncan.

Sobre la base de la divergencia encontrada, se seleccionaron una serie de modalidades de las variables analizadas, las cuales se sometieron a análisis factorial de correspondencia múltiple (STATITCF), con vistas a agrupar los genotipos evaluados. Las variables escogidas para el análisis fueron las siguientes: a: tipo de crecimiento. a1 y a2; b: color del fruto maduro. b1, b2, b3, b4, b5; c: acostillado del fruto. c1, c2, c3; d: cicatriz peduncular. d1, d2; e: peso 100 semillas; f: forma longitudinal. f1, f2, f3, f4; g: número de lóculos. g1=2, g2 (hasta 3.5), g3 (>3.5); h: número de flores por inflorescencia. h1 (hasta 5), h2 (>5, ≤ 6.5), h3 (>6.5); i: forma del hombro. i1, i2, i3, i4; j: peso del fruto. j1 (hasta 11.0g), j2 (>11.0g, <65.8 g), j3 (≥65.8g), k: ancho del fruto. k1 (hasta 1.5g), k2 (>1.5g, < 3.0g), k3 (≥3.0g); l: longitud del fruto. l1 (hasta 1.5g), l2 (>1.5g, < 3.0g), l3 (≥3.0g); m: porcentaje de fructificación. m1 (hasta 77.3%), m2 (>77.3; ≤86%), m3 (>86%).

Caracterización bioquímica del germoplasma. Los análisis electroforéticos de proteínas totales e isoenzimas se realizaron en hojas (primer trifoliolo desarrollado), las cuales provenían de plantas de 15 días de las accesiones en estudio, cultivadas *in vitro* en medio MS (10).

Para la preparación de los extractos se tomaron muestras de 2 g de tejido foliar y se homogeneizaron en frío con *buffer* que contenía Tris-HCl 0.05M a pH 7.2, sacarosa 10 % y 14 μM de ditrioteitol en proporción 1:2. El extracto fue centrifugado a 12 000 rpm a una temperatura de 0°C durante 10 minutos, sometiéndose entonces el sobrenadante a electroforesis.

En todos los casos, las corridas electroforéticas para los sistemas isoenzimáticos se efectuaron en geles de poliacrilamida al 10 % con *buffer* Tris-HCl 0.375M pH 8.9 y *buffer* Tris-Glicina 0.025M-0.019M pH 8.3 en los compartimentos, mientras que para proteínas totales se utilizó el sistema *SDS-PAGE* (11), con concentraciones del 12 y el 4 % para los geles separador y concentrador, respectivamente.

El tiempo de corrida en cada caso estuvo determinado por el desplazamiento de la banda de Kolrhauch hasta aproximadamente 6 cm del inicio. Se utilizó en todos los casos una intensidad de corriente constante de 25 mA para isoenzimas y 35 mA para proteínas totales, en una cámara de electroforesis vertical *Mini Protean II de Bio Rad*.

Después de efectuada la separación, se realizaron las tinciones específicas para la caracterización en los sistemas *Prx*, *Est* y *PPO*, según las metodologías descritas (12), *Mdh*, *Dia*, *Fdh* (13), *AC* y *AO* (14).

Los fenotipos proteicos e isoenzimáticos de cada individuo en estudio fueron establecidos sobre la base del número, la posición y presencia de cada banda, así cada banda detectada se caracterizó por un valor numérico de tinción entre 0 y 1.

La posición relativa de cada banda (Rf) fue establecida sobre la base de la distancia media de migración obtenida, dividida entre la distancia de migración del azul de bromofenol. Cada banda se caracterizó por un valor numérico de 0 (ausencia de la banda) y 1 (presencia de la banda).

Los patrones electroforéticos de cada genotipo se utilizaron para el cálculo de las relaciones genéticas, utilizando para ello el sistema de programas *MAT-GEN* (15). La matriz obtenida se sometió a análisis de agrupamiento (*STATITFC*), realizado según el coeficiente de similitud de *Simple Matching* (16).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfoagronómica del germoplasma. Los resultados obtenidos al evaluar el germoplasma, permitieron constatar la amplia variabilidad morfoagronómica existente entre las accesiones analizadas (Tabla II), donde se clasificaron o se confirmaron las clasificaciones de las accesiones estudiadas dentro del género, pudiéndose confirmar que de ellas siete pertenecen a la forma silvestre de la especie cultivada *L. esculentum*, variedad cerasiforme, una al género *L. pimpinellifolium* y una a *L. hirsutum*, siendo el resto, variedades cultivadas.

En la Tabla II se observan las diferencias fenotípicas existentes, encontrándose que casi todas las variedades cultivadas presentaron crecimiento determinado y ausencia de hombro verde en los frutos, las cuales son mutaciones del carácter silvestre, crecimiento indeterminado y

hombro verde de los frutos, que están presentes en el tipo cherry Ottawa-30 y la variedad L-10-3, presentándose este último carácter también en las variedades Mariela, Tropical M-10 e INCA-17. Los frutos presentaron formas entre redondeadas y ligeramente aplanadas, a excepción de las variedades Roma, Tropical M-10 y L-10-3, con forma piriforme la primera y aplastadas las restantes; siendo el cultivar L-10-3 diferente, por presentar frutos muy acostillados. El resto de las características evaluadas fueron similares y típicas de las variedades pertenecientes a *L. esculentum*.

Con respecto al carácter ausencia de hombro verde en los frutos, se debe señalar que este carácter está relacionado con una distribución uniforme del color en el fruto, lo cual es de gran importancia por la gran aceptación que presentan en el mercado, las variedades con dichas características para consumo en fresco (17).

Las accesiones de *L. esculentum* var. cerasiforme presentaron, como se esperaba, características típicas de la especie, crecimiento indeterminado y frutos pequeños con hombros verdes, diferenciándose las accesiones LA 2871 y Nagcarlang por la coloración de sus frutos amarillo intensa y rojo-rosado respectivamente.

La accesión PE-15, perteneciente a *L. pimpinellifolium*, por su parte, presentó flores con heterostilia, fenómeno típico de especies silvestres, donde la alogamia predomina como sistema reproductivo, aunque se ha informado que estas excerciones estigmáticas pueden producirse también en variedades comerciales que crecen en ambientes adversos (6).

Tabla II. Principales características morfológicas de las accesiones estudiadas

Accesiones	TL y No. F/I	Crecimiento	Tipo de hoja	P100 (g)	CP/CE	Forma fruto	Características Fruto inmaduro	Características fruto Mad.	No. lóculos
ES 90	IS, 6 ó 7 flores	CI	estándar	0.1245	pequeñas	F1	verdes, HV y HA	c3, CM	2
P 531	IS, 6 flores	CI	estándar	0.1895	pequeñas	F1	verdes, HV y HA	c3, CM	2
PE 62	IS, 6 ó 7 flores	CI	estándar	0.2407	pequeñas	F1	verdes, HV y HA	c3, CMF	3
LA 2871	IS, 7 flores	CI	estándar	0.2134	pequeñas	F3	verdes, HV y HA	c1, CMF	3
Nagcarlang	IS, 7 flores	CI	estándar	0.1963	pequeñas	F3	verdes, HV y HA	c5, CM	2
Mex-12	IS, 7 u 8 flores	CI	estándar	0.1671	pequeñas	F3	verdes, HV y HA	c4, CMF	2
West Virgin	IS, 7 flores	CI	estándar	0.2182	pequeñas	F3	verdes, HV y HA	c4, CMF	2
Ottawa-30	IS, 7 flores	CI	estándar	0.2373	pequeñas	F3	verdes, HV y HA	c5, CM	3
P 1410	IS, 6 flores	CI	estándar	0.3102	pequeñas	F2	verdes, HV y LH	c4, CM	3 ó 4
L-10-3	IS, 5 flores	CI	estándar	0.3328	grande/media	F1	verde claro, HV y MH	c3, CF y AM	6
INCA 9(1)	IS, 4 ó 5 flores	CD	estándar	0.3018	pequeñas	F3	verde claro, SV y HA	c4, CMF	2 ó 3
Roma	IS, 5 flores	CD	estándar	0.3302	pequeñas	F8	verde medio, SV y HA	c3, CMF y AL	3
Mariela	IS, 6 flores	CD	estándar	0.3013	grande/media	F2	Verdes, HV y LH	c3, CM y AL	4 ó 5
Tropical M-10	IS, 4 flores	CD	estándar	0.2754	grande/pequeña	F1	verdes, HV y LH	c3, CM y AL	4
Campbell-28	IS, 5 flores	CD	estándar	0.3343	grande/media	F2	verde claro, SV y HH	c3, CM y AL	5
INCA 17	IS, 5 flores	CD	estándar	0.3502	grande/pequeña	F2	verde, HV y HH	c3, CM y AL	4
HC-3880	IS, 5 flores, cono rajado	CD	estándar	0.3419	grande/media	F2	verde claro, SV y HH	c3, CM y AL	6
Amalia	IS, 6 flores	CD	estándar	0.3024	grande/media	F2	verde claro, SV y HH	c3, AL	5
PE 15	IS, 12 flores, heterostilia	CI	estándar	0.1151	pequeñas	F3	verdes, HV y HA	c4, CMF	2
PE 39	ID, 18 flores, heterostilia	CI	típica	0.0727	pequeñas	F3	verde claro, SV y HA	c6, CM, muy pubescentes	2

IS: inflorescencias simples	F3: redondeada	HH: hom bros hundidos	c6: verdes
ID: inflorescencias dobles	F8: piriforme e alargada	HA: hom bros aplanados	CM: com pac. media
CD: crecim. determinado	HV: hom bro verde	c1: amarillo intenso	CF: com pacidad fuerte
CI: crecim. indeterminado	SV: sin hom bro verde	c3: rojo naranja	CMF: CM a CF
F1: aplastada	MH: hom bros muy hundidos	c4: rojo	AL: acostillado ligero
F2: ligeramente aplanada	LH: hom bros ligeramente hundidos	c5: rojo rosado	AM: muy acostillados

Por último, se pudo apreciar que PE 39, clasificada como *L. hirsutum*, se diferenció marcadamente del resto de las especies, por la abundante pubescencia de las hojas y los frutos, además de su olor característico que hace a esta especie resistente a insectos nocivos (18). Los racimos, a su vez, se presentaron dobles y los frutos fueron siempre verdes, considerándose maduros cuando adquirieron tonalidades pardas, sin dejar de predominar el característico color verde de estos.

En las Tablas II y III aparecen detalladas algunas evaluaciones realizadas en frutos maduros, confirmándose que la accesión PE 15 pertenece a *L. pimpinellifolium*, por poseer frutos rojos de diámetro inferior a 1.5 cm, los cuales son indicadores para clasificar esta especie que presenta menor diámetro y peso de las semillas que el tipo silvestre de la especie cultivada (8, 18). Se distingue además que esta accesión, conjuntamente con PE 39, presentaron el mayor número de flores por inflorescencia, lo cual es propio de las especies silvestres, al igual que la presencia de dos lóculos por fruto.

Tabla III. Evaluación de las características del fruto

Accesiones	Peso del fruto (g)	Diámetro longitudinal (cm)	Diámetro ecuatorial (cm)	Porcentaje de fructificación
ES 90	4.86 g	1.98 i	2.00 j	100.00 a
P 531	10.94 fg	2.24 hi	2.48 h	100.00 a
PE 62	10.99 fg	2.40 h	2.66 h	98.50 a
LA 2871	9.66 fg	2.24 hi	2.40 hi	97.53 a
Nagcarlang	5.45 g	1.98 i	2.08 ij	100.00 a
M ex-12	6.13 fg	2.00 i	2.10 ij	100.00 a
West Virgin	7.98 fg	2.16 hi	2.44 hi	99.00 a
Ottawa-30	19.73 f	2.84 g	3.08 g	98.47 a
P 1410	43.31 e	3.16 f	4.64 f	98.23 a
L-10-3	105.41 c	3.98 d	7.08 b	94.20 ab
INCA 9(1)	57.70 d	4.00 d	4.92 ef	95.83 a
Roma	65.79 d	6.56 a	4.76 f	98.67 a
Mariela	106.64 c	4.54 c	6.04 d	87.03 abc
TropicalM -10	58.35 d	3.42 e	5.30 e	84.43 abc
Campbell-28	98.52 c	4.50 c	6.04 c	74.00 abc
INCA 17	93.60 c	4.02 d	5.20 e	91.30 ab
HC-3880	207.89 a	5.90 b	7.96 a	68.77 bc
Amalia	134.24 b	4.68 c	6.66 c	92.40 ab
PE 15	1.83 g	1.32 j	1.36 k	98.03 a
PE 39	0.85 g	1.06 k	1.06 k	38.13 d
ES x	4.39***	0.08***	0.14***	4.75***

Para cada variedad letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05)

Los frutos de los tipos silvestres de la especie cultivada presentaron, por lo general, diámetros superiores a 1.5 cm e inferiores a 2.5 cm, como corresponde a esta variedad; sin embargo, PE 62 tuvo frutos algo mayores, aunque inferiores a 3 cm; Ottawa-30, por su parte, se consideró una variedad tipo cherry, con frutos cuyo tamaño estaba en los límites atribuibles a *L. esculentum* (frutos con tres o más centímetros) (6).

De igual forma, en la Tabla III se puede observar que la mayoría de las accesiones evaluadas presentaron alta fructificación o cuajado de los frutos en estas condiciones, lo cual indica que estas pueden cultivarse en época óptima en los trópicos; no obstante, la accesión PE 39

presentó un porcentaje de fructificación por debajo del 40 %, debido, quizás, a que las temperaturas presentes estuvieron en el umbral de las permisibles para dicha especie, pues *L. hirsutum* crece en zonas heladas y necesita de temperaturas relativamente bajas para su fructificación (18).

El Análisis Factorial de Correspondencias Múltiples (AFCM) (Tabla IV), efectuado sobre la base de la divergencia encontrada, permitió constatar que en la formación de los grupos se extrae un 51 % de la variabilidad total en los dos ejes principales.

Tabla IV. Valores propios y porcentaje de la variabilidad explicada según AFCM

Valor propio	Explicado (%)	Acumulado (%)
0.72	37	37
0.28	14	51

Según este análisis, en el eje 1 tienen un peso mayor las modalidades de variables correspondientes al tipo de crecimiento, el número de flores por inflorescencia, así como los relacionados con las características de los frutos, mientras que el eje 2 está explicado por las modalidades correspondientes a la forma piriforme de los frutos, hombros ligeramente hundidos, color verde de los frutos maduros, bajo porcentaje de fructificación y la segunda modalidad del número de lóculos (f4, i2, b5, m1 y g2). De este modo, las accesiones estudiadas se coleccionaron en cuatro grupos fundamentales (A, B, C y D) (Figura 1).

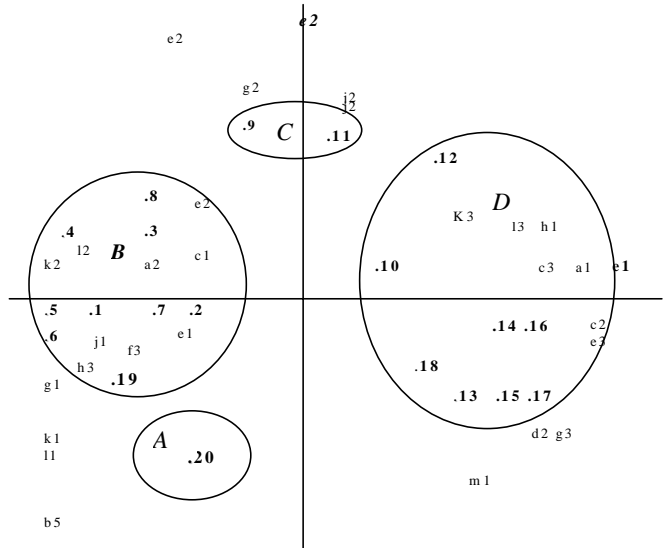


Figura 1. Distribución de los individuos y modalidades más importantes de las variables morfoagronómicas analizadas

A la izquierda del plano se agruparon los individuos en los grupos B y A; este último grupo se formó por la accesión perteneciente a *L. hirsutum*, el cual sólo se diferenció del grupo B, por presentar sus frutos maduros un color verde y bajo porcentaje de fructificación, pues el resto de las características fueron similares en ambos.

Es de destacar que en el grupo B se incluyó la variedad tipo cherry Ottawa-30, a pesar de presentar un diámetro superior a los 3 cm y la accesión correspondiente a la especie *L. pimpinellifolium*, lo cual corrobora lo informado por algunos autores (6), quienes señalaron que morfológicamente esta especie es muy similar a la especie *esculentum*, siendo la única especie dentro del género que ha logrado introgresar genes, de forma natural, a la especie cultivada.

El resto de las variedades cultivadas se ubicaron en los grupos C (en el centro del plano) y D (a la derecha), diferenciándose entre sí, pues C quedó constituido por las variedades que presentaron menor tamaño y peso de sus frutos, aunque se debe destacar que la variedad Roma, de diferente forma del fruto, se ubicó en el grupo D, pero un poco más hacia arriba que el resto de las variedades del grupo.

Es de señalar que las asociaciones encontradas entre diferentes caracteres se corresponden con lo anteriormente informado (19), pues se encontraron asociaciones entre la pequeña masa promedio de los frutos y el gran número de flores por racimo, así como entre los diámetros ecuatorial y longitudinal, la masa promedio de los frutos y el número de lóculos (17).

Estos resultados permiten corroborar la existencia de una alta variabilidad genética en el cultivo. De este modo, resulta conveniente emplear las fuentes de las especies silvestres, para un mejor aprovechamiento de la variabilidad genética, en especial, como fuentes de tolerancia a factores medioambientales no óptimos, aunque se deben señalar los beneficios que se lograrían utilizando en los programas de mejoramiento genético del cultivo, accesiones de *L. hirsutum* y *L. pimpinellifolium*, para lograr variedades resistentes a insectos nocivos y mejorar el color y la calidad de los frutos del tomate cultivado, respectivamente (18).

Caracterización bioquímica del germoplasma. El análisis cualitativo de la composición electroforética de proteínas totales en tejido foliar, permitió apreciar un total de 22 bandas en las 20 accesiones estudiadas, siendo 17 de ellas comunes a todos los genotipos (Figura 2).

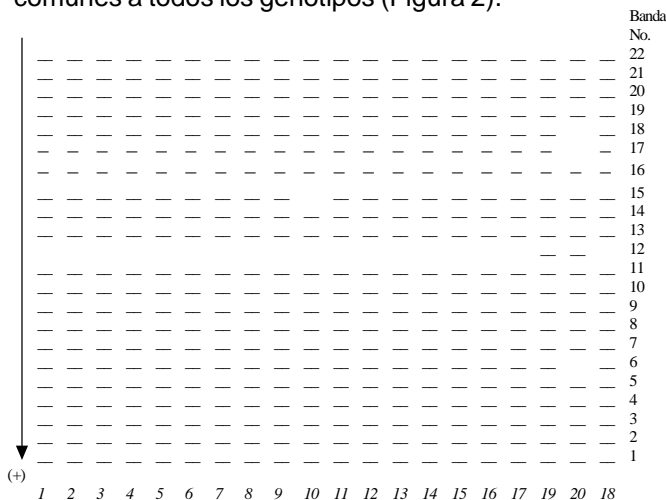


Figura 2. Proteinograma de las 20 accesiones estudiadas

En la Figura 2 se observó que de las cinco bandas polimórficas, la banda 12 fue común y exclusiva de las especies silvestres *L. hirsutum* y *L. pimpinellifolium*, mientras que se encontraron ausentes la banda 15 en la variedad L-10-3 y las bandas 6, 17 y 18 en PE 39. Al respecto, se debe expresar que la existencia de polimorfismo bioquímico en proteínas totales también fue señalado por AVRDC (20), donde se comunicó que *L. esculentum* presentaba un alto porcentaje de homología genética y que sólo presentaba diferencias apreciables con las restantes especies del género. La AVRDC también señaló la existencia de una banda común a *L. hirsutum* y *L. pimpinellifolium*, similar a lo encontrado en este trabajo.

Los electroforetogramas isoenzimáticos obtenidos, después de revelados los geles con la tinción específica para cada sistema, se observan en las Figuras 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, para los sistemas *Ppo*, *AO*, *AC*, *Fdh*, *Mdh*, *Dia*, *Prx*, y *Est*.

En la Figura 3 se muestra el diagrama electroforético obtenido de las isoenzimas *Ppo*, el cual reveló la presencia de dos bandas monomórficas con valores de movilidad electroforética iguales a 0.266 y 0.359, respectivamente. En tomate existen evidencias de que este sistema enzimático está codificado por una familia de siete genes (ABCDEFGG), unidos a un locus de 165 kb en el cromosoma 8 y su expresión está fundamentalmente confinada a etapas tempranas de desarrollo, porque en estado adulto los niveles de mRNA de estos genes están sujetos a patrones complejos de regulación espacial y temporal en órganos vegetativos y reproductivos. En hojas jóvenes, estas isoenzimas se acumulan en células de la epidermis y los tricomas, donde la forma B es la más abundante (21).

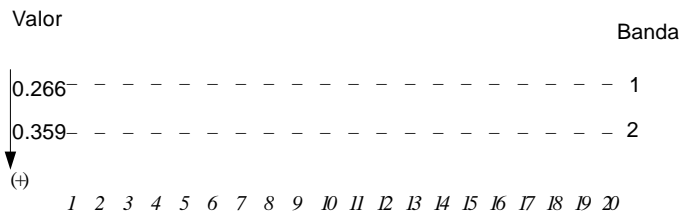


Figura 3. Zimograma *Ppo* de las 20 accesiones estudiadas

Cabe significar que en otros cultivos se ha encontrado asimismo un marcado monomorfismo dentro de este sistema enzimático (12, 22).

De igual modo, se reveló la presencia de actividad enzimática en los sistemas AO y AC (Figuras 4 y 5), las cuales estuvieron caracterizadas por la presencia de siete y dos bandas respectivamente.

La presencia de gran número de isoenzimas AO (Figura 4) en el material vegetal, indica que esta enzima juega un papel importante en los órganos fotosintetizantes. De hecho, se sabe que la AO cataliza la oxidación del ascorbato utilizando oxígeno molecular, que se encuentra en vegetales en grandes cantidades asociadas a la

pared celular y al citoplasma, así como que ayuda a la producción de fitoalexinas y previene la disrupción metabólica y el daño celular (23).

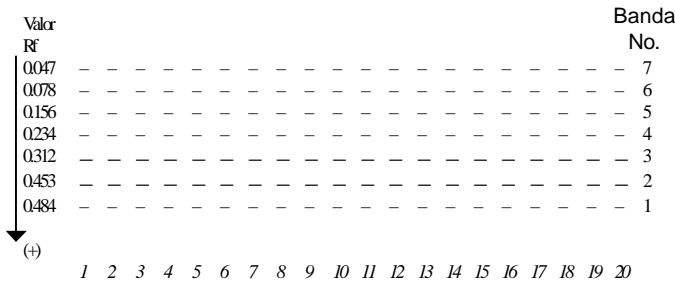


Figura 4. Zimograma AO de las 20 accesiones estudiadas

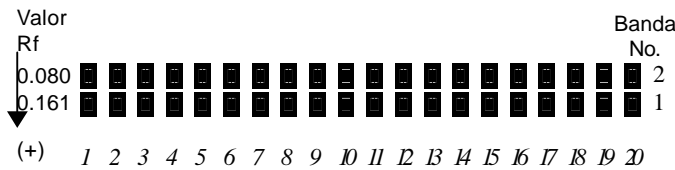


Figura 5. Zimograma AC de las 20 accesiones estudiadas

Con respecto a las isoenzimas AC (Figura 5), aunque no se cuenta con evidencias de su caracterización en tomate, se sabe que esta es una de las más abundantes proteínas solubles y que en plantas C3, se encuentra fundamentalmente en los cloroplastos y su peso promedio está comprendido entre 140-250 kDa (23).

Cabe significar que la falta de isoformas polimórficas de estos tres sistemas limita la utilización de los patrones *Ppo*, *AO* y *AC* como marcadores genéticos, y quizás esta sea la causa por la cual estos no se encuentren en los mapas genéticos del género *Lycopersicon* (5).

De igual modo, el material examinado presentó similitud electroforética en los sistemas *Fdh* y *Mdh* y *Dia* (Figuras 6, 7 y 8), sistemas que sí están incluidos en los mapas genéticos del cultivo (5, 25).

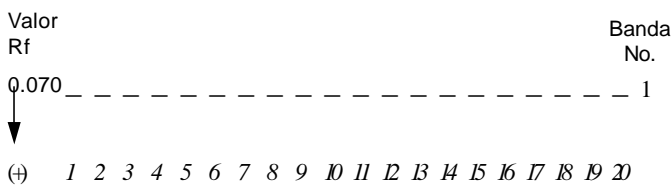


Figura 6. Zimograma Fdh de las 20 accesiones estudiadas

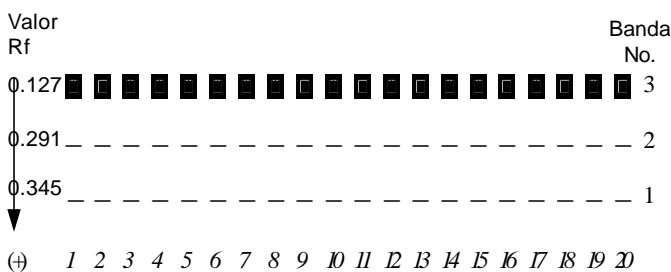


Figura 7. Zimograma Mdh de las 20 accesiones estudiadas

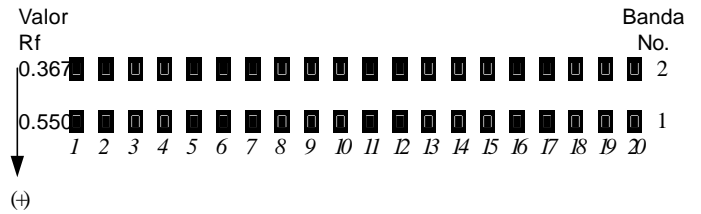


Figura 8. Zimograma Dia de las 20 accesiones estudiadas

Así, los diagramas *Fdh* obtenidos (Figura 6) resultaron idénticos para las 20 accesiones analizadas, dada la presencia de una banda común bien definida con movilidad electroforética de 0.072, lo cual es lógico, pues (26) este sistema está constituido por un solo locus que se encuentra en el cromosoma 2, ligado a *Prx-4* y *Est-1*.

La composición de *Mdh* en extractos foliares (Figura 7) estuvo caracterizada por la presencia de tres fracciones (0.127, 0.291 y 0.345) bien delimitadas. En el cultivo se sabe que este sistema puede ser tanto monomérico como dimérico, y que presenta cuatro isoformas polimórficas, de las cuales solamente han sido mapeadas *Mdh-1*, *Mdh-3* y *Mdh-4*, ubicadas en los cromosomas 3, 7 y 12 respectivamente (27).

Asimismo, dos bandas anódicas con actividad *Dia* fueron detectadas en el material estudiado, las que pudieran corresponderse a los sitios *Dia-1* y *Dia-2*, los cuales son marcadores isoenzimáticos y se localizan en los cromosomas 5 y 1 respectivamente (28). Según estos autores existe también un sitio *Dia-3*, que no estuvo presente, y del cual sólo hay evidencias de su existencia en *Solanum lycopersicoides*.

En el diagrama electroforético de isoenzimas *Prx* (Figura 9), se constató la existencia de alta actividad enzimática en el material analizado, pues este sistema presentó un total de seis bandas bien definidas para las accesiones pertenecientes a *L. esculentum* y *L. pimpinellifolium*, mostrándose diferente la accesión *PE 39*, al carecer de la banda de mayor movilidad electroforética (0.63), lo cual ayuda a su identificación.

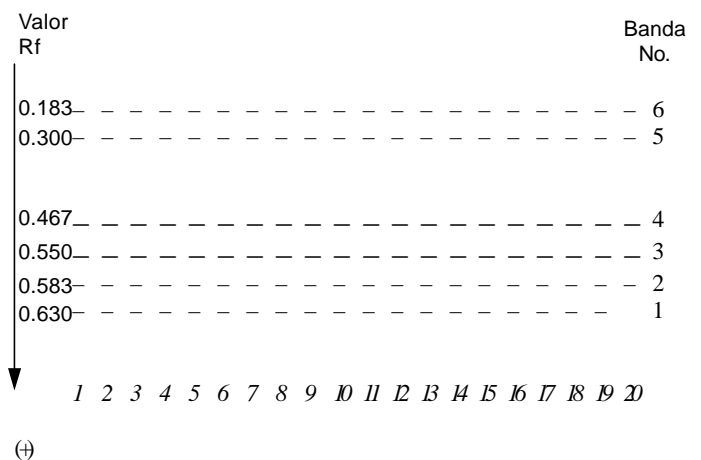


Figura 9. Zimograma Prx de las 20 accesiones estudiadas

Diversos estudios de mapeo del cultivo (5) han permitido conocer que este presenta ocho isoformas *Prx*, que codifican para un complejo de bandas, siendo uno de los más usados en estudios bioquímicos, tanto en *Lycopersicon* como en otros géneros de plantas, por ser uno de los más polimórficos y por la estabilidad y reproducibilidad de sus bandas, además del importante papel que desempeñan las isoenzimas *Prx* en la biosíntesis de los componentes de la pared celular, así como en la regulación del crecimiento, la diferenciación celular y su relación con la resistencia a factores adversos tanto bióticos como abióticos (18, 29).

Similar polimorfismo enzimático fue observado en la composición de *Est* en tejido foliar, que permitió, según se puede apreciar en la Figura 10, diferenciar a *PE 39* del resto de las accesiones. En este sistema enzimático se observaron un total de ocho bandas, de las cuales seis son comunes a todos los genotipos, mientras las bandas 1 y 2 se mostraron diferentes, apareciendo la banda 1 en todas las accesiones, a excepción de *PE 39*, que fue además la única accesión que presentó la segunda banda.

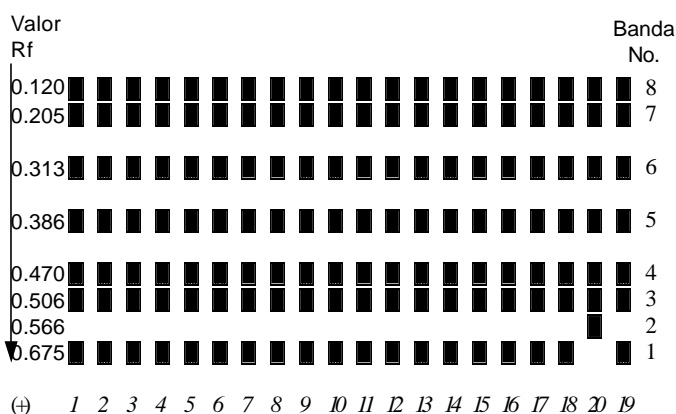


Figura 10. Zimograma Est de las 20 accesiones estudiadas

Con respecto a las enzimas *Est*, se debe señalar que están constituidas por un grupo complejo de proteínas asociadas con proteínas intracelulares específicas¹ (5, 12), que presentan un total de ocho sitios polimórficos en el cultivo (5). El gran número de bandas *Est* encontrado en hojas jóvenes indica que el mismo juega un papel vital en la fotosíntesis.

Cabe señalar que los resultados obtenidos se corresponden, en general, con otros informados previamente (23), quienes plantearon un 100 % de monomorfismo enzimático dentro de *L. esculentum* y que el locus *Est 1a*² es distintivo de *L. hirsutum*. Este locus, al parecer, está constituido por la segunda banda encontrada en el zimograma *Est*.

Al respecto, se sabe que las plantas requieren generalmente más de una isoforma, de una enzima particular, de manera tal que se garantice una catálisis eficiente. Ahora bien, las isoenzimas son de expresión génica y, por lo tanto, dependen del tipo de tejido y de su desa-

rollo, por lo que la ausencia de bandas en los diferentes patrones isoenzimáticos, no sólo se debe a las necesidades de esas enzimas en los diferentes tejidos, sino además a la comigración de proteínas y a la diferencia de zonas geográficas, pues a pesar de que la mayoría no son influidas por el ambiente, los patrones electroforéticos de unos pocos sistemas entre los que se incluye *Prx*, *Est*, *Aps*, *Sod*, *Cat* y otros, pueden ser modificados por factores bióticos y abióticos, de manera tal que en esas condiciones se altere el funcionamiento de los genes que codifican para esas enzimas (6, 31). En los patrones también influye la ubicación de las isoformas, así se ha observado (23) que en tomate el sitio *Prx 4* correspondía a un sistema de bandas tanto anódicas como catódicas, siendo las últimas imposibles de detectar en nuestras condiciones.

De forma general, los resultados obtenidos en el análisis bioquímico han revelado la existencia de una notable homogeneidad electroforética en este cultivo, lo que se traduce en el alto porcentaje de bandas monomórficas detectadas (93.4 %) en los ocho sistemas isoenzimáticos analizados; el patrón electroforético de proteínas totales, por su parte, presentó menor similitud electroforética (77.3 %) (Tabla V).

Tabla V. Análisis integral de la variabilidad genética encontrada

	<i>Prx</i>	<i>Est</i>	<i>Mdh</i>	<i>Fdh</i>	<i>AC</i>	<i>AO</i>	<i>Dia</i>	<i>PPO</i>	<i>PT</i>
No. bandas monomórficas	5	6	3	1	2	6	2	2	17
No. bandas polimórficas	1	2	0	0	0	0	0	0	5
Total	6	8	3	1	2	6	2	2	22

No obstante a la gran homogeneidad electroforética encontrada, resultó interesante observar la presencia de bandas polimórficas en los sistemas *Prx*, *Est* y *PT*, lo cual posibilita su empleo como posible marcador isoenzimático, para discriminar entre especies *L. hirsutum* y las otras dos especies del género estudiadas.

Al respecto, la Tabla VI muestra los índices de similitud de *Simple Matching* (16), con el cual se obtuvieron mejores resultados según el sistema de programas *MAT-GEN*, los que corroboran el alto porcentaje de similitud genética en la representación del germoplasma evaluado, donde el menor valor de similitud genética se encuentran en *L. hirsutum*. Lo anterior se manifiesta en el dendrograma que aparece reflejado en la Figura 11, en el cual aparecen conformados cuatro grupos representados por: *PE 39* el primero, *PE 15*, el segundo, *L-10-3*, el tercero, quedando el último grupo conformado por el resto del material analizado.

Tabla VI. Índices de similitud electroforética en el material evaluado

Genotipos	<i>PE 39</i>	<i>PE 15</i>	<i>L-10-3</i>	Resto
<i>PE 39</i>	1.00			
<i>PE 15</i>	0.87	1.00		
<i>L-10-3</i>	0.83	0.96	1.00	
Resto	0.84	0.98	0.98	1.00

¹ Fernández-Muñoz, 1999, comunicación personal

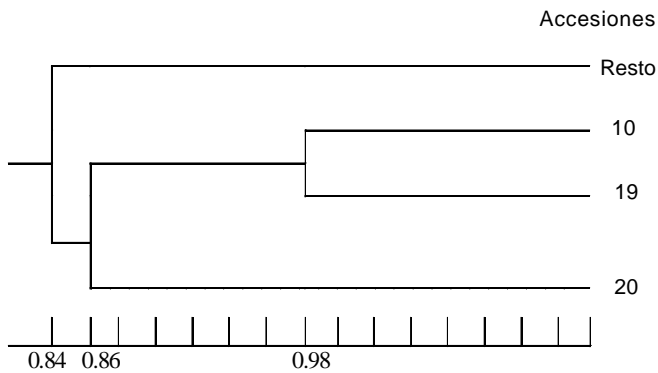


Figura 11. Análisis de cluster de las accesiones estudiadas, realizado según el coeficiente de similitud de Simple Matching

Estos resultados evidencian la base relativamente estrecha de variación bioquímica existente en el material evaluado y se corresponden, en general, con lo planteado por diversos autores (31, 32), quienes han informado acerca de la gran homogeneidad isoenzimática presente en el género *Lycopersicon*, lo cual se corrobora por investigaciones efectuadas (25, 32), las que han revelado la presencia de un bajo nivel de polimorfismo, inclusive utilizando técnicas moleculares.

Al respecto, se ha informado (18) que cultivares primitivos de muchas partes del mundo presentan una variabilidad alozímica muy uniforme, lo que no quiere decir que los cultivares primitivos sean monomórficos, ya que pueden presentar variaciones interesantes en relación con características específicas.

Dichos autores plantean 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 restricciones frecuentes en el tamaño de las poblaciones, así como que es probable que se hayan producido restricciones análogas durante el proceso de domesticación, de manera tal que la autogamia inducida por falta de polinización apropiada en las regiones no nativas, puede haber contribuido a la fijación rápida de los genes, una reducción ulterior de la variabilidad genética y uniformidad.

Estos resultados evidencian la necesidad de continuar la búsqueda de nuevas formas polimórficas del cultivo, incorporando en lo posible, técnicas mucho más polimórficas, que permitan revelar la variación existente al nivel de ADN y tener variabilidad genética a explotar en el cultivo.

REFERENCIAS

- Pino, M. de los A. Modificación de la productividad del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) fuera del período óptimo utilizando maíz como sombra natural. Tesis de Grado. INCA, 2001. 104 p.
- FAOSTAT. FAOSTAT Data Base Results, 1998.
- Moya, C.; Álvarez, M. y Caballero, A. Evaluación de nuevas líneas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) considerando los criterios de los productores en la metodología utilizada. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 3, p. 75-79.
- Gómez, O.; Casanova, A.; Laterrot, H. y Anaís, 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.
- Rick, C. M. Download TGRC Stock list. [Consultado 5-5-2000]. Disponible en: <http://tgrc.ucdavis.edu>.
- Ochoa, M. J.; Carravedo, M. Catálogo de semillas de tomates autóctonos. Banco de germoplasma de plantas hortícolas de Zaragoza. Dpto. Agric. y Medio Ambiente. Gob. de Aragón, 1999, 71 p.
- Cuba. Minagri. Instituto de Suelos. Nueva versión genética de los suelos de Cuba. La Habana : Agrinfor, 1999. 107 p.
- IPGRI. Descriptores para el tomate (*Lycopersicon* spp.). Roma : Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, 1995. 44 p.
- Cuba: MINAGRI. Instructivo técnico para organopónicos y huertos Intensivos. La Habana : Minagri, 1998. 74 p.
- Murashige, T.; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and biassays with the tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum*, 1962, vol. 15, p. 473-497.
- Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head bacteriophage T4. *Nature*. 1970, vol. 227, p. 680-685.
- Iglesias, L. Estudio de la variabilidad morfoagronómica y bioquímica en soya (*Glycine max* L. Merrill). Tesis de Grado; INCA, 1986, 232 p.
- Wendel, J. F. y Weeden, N. F. Visualization and interpretation of plant isozymes. En: *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, 1989, 34 p.
- Vallejos, C. E. Enzyme activity staining. En: *Isozymes in Plant Genetic and Breeding*. Elsevier. Amsterdam : Elsevier, 1983, 287 p.
- Sigarroa, A. y Cornide, M. T. Manual MAT-GEN. Manual del usuario. La Habana : Facultad de Biología, 1997. 37 p.
- Apostol, B. L. Estimation of the number of full sibling family at an opposition site using RAPD-PCR markers application to the mosquito *Aedes aegypti*. *Theor. Appl. Genet.*, 1993, vol. 86, p. 991-1000.
- Morales, C.; Shagarodsky, T.; Reynaldo, I.; Álvarez, M.; Martínez, B.; Pérez, S. y Rodríguez, J. Caracterización de un grupo de cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) para consumo fresco. *Cultivos Tropicales*, 1997, vol. 18, no. 1, p. 66-70.
- Nuez, F. El Cultivo del Tomate. Madrid : Ed. Mundi- Prensa, 1995. 793 p.
- Solis, A.; Martínez, R.; Pupo, J.; Cabrera, F. y Parra, R. Caracterización del germoplasma de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) con vistas a la implantación de un programa de fitomejoramiento participativo. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 22, no. 2, p. 33-37.
- AVRDC (1995). Tomato improvement. AVRDC Progress Report. 1995, p. 64-81.
- Thyphyapong, P.; Joel, D. M. y Steffens, J. C. Differential expression and turnover of the tomato polyphenol oxidase gene family during vegetative and reproductive development. *Plant Physiol.*, 1997, vol. 113, p. 707-718.

22. Mantarroyos, A. A. V.; de Carvalho, P. C. L.; Aguiar, W. S. F.; de Santos, E. O. y De França, J. G. E. Caracterización isoenzimática de variedades de yuca pertenecientes al banco de germoplasma del IPA. En: Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal. (3:1998 jun 1-5:La Habana), 1998. 295 p.
23. Florido, M. Caracterización de variedades y especies silvestres de tomate atendiendo a características morfobioquímicas y tolerancia al calor. Tesis de Maestría, UH, 1999. 89 p.
24. Maleau, N.; Coleman, J. R. Isolation and characterization of a cDNA coding for pea chloroplast carbonic anhydrase. *Plant Physiol.*, 1991, vol. 95, p. 264-268.
25. Vosman, B. The use of molecular markers for the identification of tomato cultivars. En: Nueva York: Chapman & Hall, 1998, 287 p.
26. Chetelat, R. T.; Pudlo, W. y Verna, J. W. de. Map localization of Formate dehydrogenase-1 (Fdh-1) a new isozyme marker on 2L. *TGC Report*, 1993, vol. 43, p. 11-13.
27. Chetelat, R. T. y Verna, J. W. de. Map location of malate dehydrogenase-1 (Mdh-1), a new isozyme marker for 3L. *TGC Report*, 1993, vol. 43, p. 13.
28. Chetelat, R. T.; Takahashi, M. y Verna, J. W. de. Map location Diaphorase-3 (Dia-3), a new isozyme marker on 9s. *TGC Report*, 1993, vol. 43, p. 10-11.
29. Sairam, R. K.; Deshmukh, P. S. y Saxena, D. C. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biol. Plantarum*, 1998, vol. 41, no. 3, p. 387-394.
30. Paolacci, A. R.; Badiani, M.; D'Annibale, A.; Fusan, A. y Matteucci, G. Antioxidants and photosynthesis in the leaves of *Triticum durum* Desf. Seedlings acclimated to non-stressing high temperature. *J. Plant Physiol.*, 1997, vol. 150, p. 381-387.
31. Saavedra, G.; Spoor, W. y Harrier, L. Molecular markers and genetic base broadening in *Lycopersicon* spp. *Acta Hort. (ISHS)*, 2001, vol. 546, p. 503-507.
32. Vosman, B.; Cooke, R.; Ganai, M.; Peeters, R.; Isaac, P. y Bredemeijer, G. Standardization and application of microsatellite markers for variety identification in tomato and wheat. *Acta Hort. (ISHS)*, 2001, vol. 546, p. 307-316.

Recibido: 26 de noviembre del 2001

Aceptado: 21 de mayo del 2002

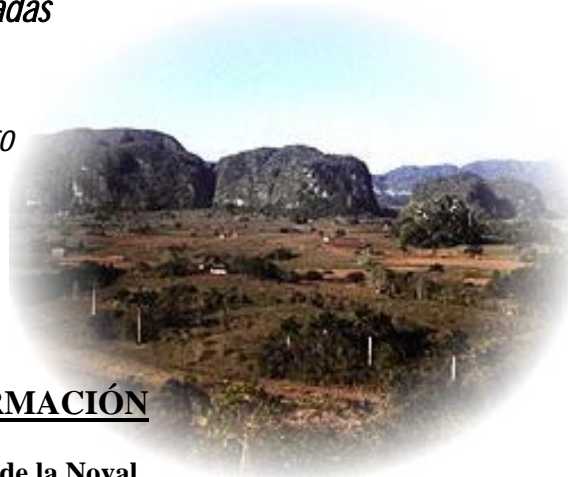
DIPLOMADOS

Precio: 500

Incremento en la producción de las áreas afectadas por la sequía

Coordinador: Dra.C. María C. González Cepero

Duración: 1 año



SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (64) 6-3773
Fax: (53) (64) 6-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu