

Identificación de QTL en las generaciones segregantes de un híbrido de segundo ciclo de tomate

Identification of agronomic interesting QTL in the segregating generations of a tomato second cycle hybrid

Victoria Guadalupe Cabodevila ^{1,2}, Paolo Cacchiarelli ², Guillermo Raúl Pratta ^{1,2}

Originales: *Recepción*: 19/08/2015 - *Aceptación*: 28/05/2016

RESUMEN

El objetivo fue detectar QTL de interés agronómico en las generaciones segregantes (F_2 y retrocruzas) de un híbrido de segundo ciclo (HSC) de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), obtenido entre dos líneas endocriadas recombinantes derivadas del cruzamiento inter específico *S. lycopersicum* cv. Caimanta x *S. pimpinellifolium* LA 722. La caracterización molecular se hizo por marcadores AFLP mientras que los caracteres morfológicos analizados fueron peso, diámetro, altura, contenido en sólidos solubles, acidez, color, pH, forma, dureza y vida poscosecha de los frutos. Para identificar QTL, la asociación entre bandas polimórficas y caracteres cuantitativos con variancia genética significativa se realizó por el análisis de único punto. Con seis combinaciones de cebadores, seleccionadas por detectar elevado porcentaje de polimorfismo, se obtuvo 221 bandas de las cuales 135 (61,1%) fueron polimórficas. En la F_2 , 29 fragmentos polimórficos siguieron la distribución mendeliana esperada, identificándose un total de 28 QTL para todos los caracteres analizados. En las retrocruzas, 15 fragmentos polimórficos siguieron una segregación mendeliana 1:1 (detectándose en 12 de ellas un comportamiento *de novo*) y se identificó en total 13 QTL para los caracteres contenido en sólidos solubles, altura, peso y forma del fruto. Los AFLP permitieron identificar QTL de importancia agronómica en las generaciones segregantes del HSC de tomate.

Palabras clave

Solanum seccion Lycopersicon • mejoramiento genético vegetal • recursos fitogenéticos • calidad de fruto • vida poscosecha • biotecnología vegetal • loci de rasgos cuantitativos

1 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. gpratta@unr.edu.ar - gpratta@conicet.gov.ar

2 Cátedra de Genética, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario.

ABSTRACT

The objective was to detect QTL of agronomic interest in the segregating generations F_2 and backcrosses of a tomato (*Solanum lycopersicum* L.) second cycle hybrid (SCH) obtained between two recombinant inbred lines derived from the interspecific cross *S. lycopersicum* cv. Caimanta x *S. pimpinellifolium* LA 722. Molecular characterization was achieved by AFLP markers and agronomic traits under study were fruit weight, diameter, height, soluble solids content, acidity, color, pH, shape, firmness and post-harvest life. Single point analysis was applied to detect QTL, assessing the association of AFLP polymorphic bands and quantitative traits with significant genetic variance. Amplifications with six primers combinations, selected because of detecting high polymorphism percentage, 221 AFLP bands were obtained, and 135 (61.1%) of them were polymorphic in the tomato populations analyzed. In the F_2 population, 29 polymorphic fragments adjusted to the expected mendelian segregation and a total of 28 QTL were detected for all evaluated traits. In the backcross population, 15 polymorphic fragments adjusted to the expected mendelian proportion 1:1 (12 of these fragments showed a *de novo* pattern) and a total of 13 QTL were identified for the traits soluble solids content, height, weight and diameter. AFLP allowed to identify QTL of agronomic interest in the segregating generations of a tomato SCH.

Keywords

Solanum section *Lycopersicon* • plant breeding • plant genetic resources • fruit quality • post-harvest life • plant biotechnology • quantitative trait loci (QTL)

INTRODUCCIÓN

Durante la madurez del fruto de tomate (*Solanum lycopersicum*) se producen cambios fisiológicos y bioquímicos que conducen a la adquisición del color, textura, aroma y sabor requeridos para su consumo (9).

El mantenimiento de estas características durante el mayor tiempo posible amplía las posibilidades de comercialización especialmente cuando se destina al mercado para consumo en fresco (6).

La calidad puede definirse como la adecuación de un producto a las necesidades que se espera que brinde.

En tomate, es posible distinguir en calidad externa (relacionada con color, peso, tamaño, forma, apariencia, entre otros atributos) y calidad interna (17).

La decisión inicial de la compra por parte del consumidor se realiza sobre la base de los atributos externos del tomate que pueden ser percibidos por la vista y el tacto (color y forma) y la adquisición posterior dependerá de la evaluación que efectúa en el momento del consumo, en función del sabor, el aroma y la consistencia (14, 29).

En el caso particular de los tomates larga vida existentes en el mercado argentino, son variedades híbridas importadas que se lograron con las técnicas tradicionales de mejoramiento genético, incorporando a las variedades parentales los genes mutantes para la madurez. Estos híbridos tienen el inconveniente de ser medianamente aceptados

por el consumidor por las modificaciones en el color, el sabor, la textura y el aroma, y acarrear efectos negativos sobre caracteres de valor comercial (30).

Por otro lado, las plantas de tomate transgénicas producen frutos que retardan su proceso de madurez permaneciendo intactos por extensos períodos de tiempo. Esta metodología requiere gran inversión económica antes de obtener resultados y a la vez enfrenta una marcada resistencia por parte del consumidor para adquirir alimentos genéticamente modificados (17). Por esta razón, en el mercado argentino no existen tomates transgénicos (22).

Las especies emparentadas con *S. lycopersicum* han sido utilizadas para incorporar genes de resistencias a insectos, enfermedades y a condiciones ambientales adversas tales como sequía y/o salinidad (1). Estas especies también presentan variabilidad para las características de calidad de los frutos, como son el sabor, el aroma, la coloración y la textura.

En la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, la Cátedra de Genética trabaja desde hace 20 años en la incorporación de genes de especies silvestres de tomate analizando su efecto sobre caracteres que confieren calidad al fruto.

Se ha demostrado que frutos de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* y *S. pimpinellifolium* tienen mayor vida poscosecha que las cultivares comerciales (35), siendo entonces posible aplicar el mejoramiento genético para aumentar tanto la calidad de los frutos como su vida poscosecha a través del uso de germoplasma silvestre (19).

Estos primeros resultados (26, 35) se obtuvieron a mediados de la década del '90, en un programa de selección divergente - antagónica para el peso y la vida poscosecha de los frutos a partir de la generación F_2 del cruzamiento entre la cultivar Caimanta

(*S. lycopersicum*) y una entrada de la especie silvestre *S. pimpinellifolium*, LA722. Este proceso permitió obtener 18 RIL (líneas endocriadas recombinantes) con diferencias significativas para diversos caracteres que hacen a la calidad de los frutos, obteniéndose genotipos aún superiores al progenitor silvestre para la vida poscosecha, lo que representa una segregación transgresiva (26). Estos antecedentes indican la posibilidad de detectar, en las diferentes generaciones segregantes del cruzamiento entre RIL, nuevas combinaciones genéticas entre los alelos favorables acumulados durante las generaciones de autofecundación y selección en las que dichas RIL se originaron. Tales combinaciones genéticas con efectos fenotípicos de importancia agronómica han sido descritas tanto en especies autóгамas (7) como alógamas (2).

En este trabajo, se analizó las generaciones F_2 y retrocruzas (BCs) de híbridos de segundo ciclo (HSC), es decir, cruzamientos entre RIL que ya fueron seleccionadas por sus cualidades y en las que hubo una eliminación importante de los genes menos favorables para el aprovechamiento del cultivo (5, 10, 23), ya que representan una población promisoría para realizar nueva selección y detección/validación de QTL (loci de caracteres cuantitativos) identificados en trabajos previos (24, 27, 28) mediante distintos tipos de marcadores moleculares, entre los que se destaca AFLP (polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados).

La hipótesis a contrastar en este trabajo es que la recombinación de genes selectos en las generaciones segregantes de los cruzamientos entre RIL originadas por el programa de mejoramiento de tomate de la Cátedra de Genética, FCA-UNR, originó variabilidad para caracteres cuantitativos de interés agronómico.

La asociación entre la variación en los niveles genotípico y fenotípico es detectable por identificación de QTL mediante marcadores de AFLP.

Objetivo

Identificar QTL para caracteres de interés agronómico en tomate mediante la asociación entre la fenotipificación y la genotipificación por marcadores de AFLP de individuos pertenecientes a las F_2 y BCs de un HSC, a fin de valorar agronómicamente la nueva variación genética causada por la recombinación de genes selectos en las generaciones segregantes de los cruza-mientos entre RIL.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular y Cultivo *in vitro* de Tejidos Vegetales y en la Sección Horticultura del Campo Experimental "José F. Villarino", ubicados en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario (UNR), Zavalla, Santa Fe (33°1' S).

Los genotipos evaluados fueron dos RIL de tomate (ToUNR18 y ToUNR1), su F_1 ToUNR18 x ToUNR1 (HSC), la generación F_2 (obtenida por autofecundación del HSC) y las retrocruzas (BCs) hacia ambos progenitores, (BC1: F_1 (ToUNR18 x ToUNR1) x ToUNR18) y (BC2: (F_1 ToUNR18 x ToUNR1) x ToUNR1).

Como testigos experimentales se empleó a *S. lycopersicum* cv. Caimanta, *S. pimpinellifolium* LA722 y su híbrido interespecífico (F_1 Caimanta x LA722), genotipos de los cuales se derivaron las RIL.

S. lycopersicum cv. Caimanta fue provista por la Estación Experimental Agropecuaria de INTA Cerrillos, Salta, Argentina y *S. pimpinellifolium* LA722 fue

provista por el Tomato Genetic Resources Center, Department of Vegetable Crops, University of California at Davis, EEUU.

La cv. Caimanta tiene hábito de crecimiento determinado, frutos tipo platense (mayor diámetro que altura), de alto peso y corta vida poscosecha mientras que *S. pimpinellifolium* LA722 presenta hábito de crecimiento indeterminado, frutos esféricos (diámetro y altura similares), de bajo peso y relativamente larga vida poscosecha (26). El híbrido de segundo ciclo fue escogido a partir del análisis dialélico (15).

Los plantines ($N_{\text{Total}} = 260$) se obtuvieron en almácigos y el trasplante a invernadero se realizó a los 45 días de la siembra en un diseño completamente aleatorizado.

Cien plantas de la F_2 y 50 de cada BC se evaluaron junto a 10 plantas de cada genotipo uniforme (ambas RIL, el HSC y los testigos experimentales).

La distancia entre plantas fue de 35 cm y la distancia entre surcos de 1 m. Previo al trasplante se realizó una fertilización orgánica del suelo.

Las plantas fueron regadas dos veces por semana, cantidad suficiente para evitar el estrés hídrico durante el período de crecimiento.

En cada planta, sobre 10 frutos cosechados al estado *pintón* (10% de la superficie con coloración rojiza), que es el estado en el cual se detectan visualmente los primeros síntomas de acumulación de carotenoides (9), se evaluaron los siguientes caracteres: diámetro (en cm), altura (en cm), forma (cociente altura sobre diámetro), peso (en g) y vida poscosecha (en días transcurridos desde la cosecha hasta el inicio del ablandamiento del fruto).

Para evaluar este último carácter los frutos cosechados se almacenaron a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ en una estantería, siguiendo la metodología propuesta por Schuelter *et al.* (2002).

En frutos cosechados al estado maduro, estado en el cual el fruto presenta más del 90% de su superficie con el color de madurez (9), se evaluó el contenido en sólidos solubles (en °Brix): porcentaje de glucosa más fructosa del jugo homogeneizado, medido con un refractómetro manual; la acidez: medida a través del pH del jugo homogeneizado y de la acidez titulable (en gramos de ácido cítrico/100 gramos de jugo homogeneizado) calculada a partir del volumen de NaOH 0,1N necesario para llevar a 8,1 el pH de 10g de jugo disueltos en 100ml de agua destilada; el color: a través del porcentaje de reflectancia (L) y el cociente a/b (a: absorbancia a 540nm y b: absorbancia a 675nm), determinados con un cromómetro CR 400; y la dureza: medida sobre el plano ecuatorial, en dos áreas opuestas del fruto con un durómetro tipo Shore A (Durofel DFT100) con una puntera de 0,10 cm².

El valor de los parámetros de color de las muestras se obtuvo promediando las medidas obtenidas de tres lecturas en la zona ecuatorial de cada fruto.

La dureza y el color del fruto se determinaron en cinco frutos por planta. Para el contenido en sólidos solubles, pH y acidez la unidad experimental fue la muestra de jugo obtenida de 3 a 8 frutos por genotipo dependiendo del tamaño del fruto, mientras que para los demás caracteres la unidad experimental fue el fruto.

Para cada carácter evaluado, se evaluó la normalidad de su distribución de frecuencias con el test de Shapiro-Wilk y se calculó las heredabilidades en sentido amplio (H^2) y en sentido estricto (h^2) y las correlaciones fenotípicas y genéticas entre cada par de caracteres (11).

La metodología para calcular la correlación genética no permite estimar su significado estadístico (25).

Para la extracción de ADN se tomó muestras de hojas jóvenes pertenecientes

a cada genotipo (uniformes y generaciones segregantes) y se usó un kit comercial siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante del kit (Wizard® Genomic DNA Purification Kit, Promega).

Las muestras de ADN fueron cuantificadas en un gel de agarosa al 1%, teñido con SybrSafe®.

Para obtener los perfiles de AFLP, se siguió el protocolo general (3) con breves modificaciones descritas en Pratta *et al.* (2011). Las amplificaciones selectivas se hicieron con las 6 combinaciones de cebadores +3 seleccionadas por Cabodevila *et al.* (2013).

La separación de los fragmentos de amplificación se realizó en geles de poliacrilamida (6% p/v) a temperatura ambiente y la visualización mediante tinción con AgNO₃.

Los geles fueron analizados con el programa Gel-pro Analyzer®, asignándose un 1 a la presencia de una banda de AFLP y un 0 a la ausencia.

Cada banda fue identificada con un número y una letra, que correspondieron al tamaño molecular de la banda y a la codificación de la combinación, respectivamente.

Se determinó la cantidad de bandas totales, la cantidad de bandas polimórficas y el porcentaje de polimorfismo para los genotipos uniformes y las generaciones segregantes.

Para probar la segregación mendeliana de las bandas de AFLP, y debido a que se observó comportamientos *de novo* de acuerdo a Liberatti *et al.* (2013), con la prueba de bondad de ajuste del Chi-cuadrado se chequeó en la F₂ una proporción 3 : 1 para bandas polimórficas entre las RIL o *de novo* en F₂ con presencia o ausencia en al menos el 10% de los individuos, o una proporción 1 : 1 para las bandas con comportamientos *de novo* en el HSC. En las BC, se probó una proporción

1 : 1 independientemente del comportamiento de las bandas.

Para la identificación de QTL, la metodología indica que solo se analizan las generaciones segregantes, por lo que se volvió a estimar la normalidad de la distribución de los datos en estas generaciones.

La asociación entre las bandas de AFLP que mostraron una segregación mendeliana esperada con los caracteres de interés agronómico que tuvieron variabilidad genética (o H^2) significativa, se determinó a través del método de un solo punto (*single point analysis*, (32), aplicando un ANOVA a un criterio de clasificación para los caracteres con distribución normal, en el cual los diferentes marcadores fueron las fuentes de variación. Se estableció el valor de probabilidad de $p < 0,05$ como límite para definir las diferencias entre las medias de los caracteres según el marcador y se utilizó el valor de R^2 para estimar el porcentaje de variancia fenotípica total explicada para el QTL estudiado por cada marcador.

Para los QTL involucrados en la determinación de caracteres agronómicos que manifestaron diferencias entre los testigos experimentales (cv. Caimanta o LA722) y marcados por fragmentos polimórficos entre ellos, se analizó si mostraban el efecto esperado de acuerdo con el testigo que lo aportó. Por ejemplo, si la cv. Caimanta aportó una banda de AFLP asociada a peso, marcando la presencia de esa banda un mayor valor medio para este carácter en los individuos que la portan en una determinada generación segregante, entonces el efecto es el esperado.

Puede ocurrir que los individuos de la generación segregante porten esa banda pero manifiesten un valor medio bajo para peso; en este caso el efecto no es el esperado y algunos autores han dado a este hecho el nombre de variación críptica (1, 32).

Los fragmentos asociados a más de un carácter de interés agronómico fueron considerados como marcadores de QTL con efecto pleiotrópico (32).

Luego, se aplicó un ANOVA a dos criterios de clasificación con todas las combinaciones de marcadores con segregación independiente y asociados a un mismo carácter fenotípico para detectar las interacciones entre QTL con efecto significativo sobre la expresión del carácter analizado.

Para los caracteres que no presentaron distribución normal, se emplearon métodos no paramétricos para la detección de QTL (11).

RESULTADOS

Todos los caracteres evaluados mostraron una distribución normal cuando se consideró el conjunto total de los materiales analizados. Los valores medios y errores estándares de los caracteres evaluados se presentan en la tabla 1 (pág. 7), para todas las generaciones bajo estudio (segregantes, uniformes parentales y testigos experimentales), junto a los valores de H^2 y h^2 .

Para todos los caracteres se encontró variancia genética significativa, con valores de H^2 de medios a altos (tabla 1, pág. 7).

Para algunos caracteres, por ejemplo VP, pH y L, el componente aditivo de la variación genética fue nulo ($h^2 = 0$), lo que indica que toda la variancia genética fue de tipo no aditiva.

En la tabla 2 (pág. 8), se presentan las correlaciones fenotípicas (coeficientes de Pearson) y genéticas entre los caracteres analizados.

Tabla 1. Valores medios \pm error estándar y heredabilidades en sentido amplio y en sentido estricto para caracteres de interés agronómico en los genotipos uniformes y segregantes evaluados.

Table 1. Mean values \pm standard error and broad sense and narrow sense heritabilities for traits of agronomic interest in the uniform and segregant tomato generations evaluated in this research.

Carácter	Testigos experimentales				Genotipos parentales				Generaciones segregantes			
	Cai	Pimpi	F ₁ CxP	RIL18	RIL1	HSC	F ₂	BC1	BC2	H ²	h ²	
D	6,46 \pm 0,28	1,22 \pm 0,03	2,17 \pm 0,03	2,78 \pm 0,35	3,12 \pm 0,13	2,71 \pm 0,12	2,62 \pm 0,41	2,56 \pm 0,37	2,62 \pm 0,17	0,38	0,38	
A	3,99 \pm 0,14	1,13 \pm 0,02	2,02 \pm 0,03	3,08 \pm 0,17	2,83 \pm 0,11	2,59 \pm 0,12	2,64 \pm 0,43	2,83 \pm 0,43	2,45 \pm 0,14	0,33	0,33	
A/D	0,65 \pm 0,03	0,95 \pm 0,03	0,93 \pm 0,01	1,13 \pm 0,08	0,92 \pm 0,03	0,96 \pm 0,02	1,03 \pm 0,14	1,13 \pm 0,12	0,94 \pm 0,08	0,51	0,51	
Pe	97,8 \pm 11,1	1,2 \pm 0,2	6,2 \pm 0,2	13,7 \pm 4,4	17,2 \pm 1,7	13,1 \pm 1,9	11,0 \pm 4,5	12,1 \pm 3,7	10,9 \pm 1,4	0,42	0,42	
VP	8,0 \pm 0,6	15,3 \pm 0,1	16,4 \pm 0,4	14,0 \pm 1,2	14,2 \pm 1,5	14,3 \pm 0,9	18,3 \pm 4,5	19,0 \pm 8,1	18,6 \pm 5,5	0,34	0,00	
SS	7,52 \pm 0,03	7,25 \pm 0,35	8,73 \pm 0,08	6,04 \pm 0,04	7,14 \pm 0,22	7,38 \pm 0,17	7,31 \pm 1,28	7,89 \pm 0,85	8,68 \pm 0,77	0,92	0,92	
pH	4,79 \pm 0,03	4,83 \pm 0,06	4,76 \pm 0,04	4,84 \pm 0,03	4,78 \pm 0,02	5,04 \pm 0,06	4,83 \pm 0,23	4,98 \pm 0,17	4,98 \pm 0,27	0,82	0,00	
AT	0,26 \pm 0,01	0,91 \pm 0,03	0,43 \pm 0,01	0,25 \pm 0,01	0,73 \pm 0,01	0,32 \pm 0,01	0,31 \pm 0,11	0,29 \pm 0,07	0,35 \pm 0,11	0,98	0,00	
L	41,1 \pm 1,9	38,5 \pm 0,2	36,8 \pm 0,3	42,2 \pm 0,5	40,1 \pm 0,4	40,5 \pm 0,4	39,3 \pm 1,2	38,7 \pm 0,9	39,1 \pm 1,5	0,42	0,00	
a/b	0,94 \pm 0,04	1,42 \pm 0,02	1,34 \pm 0,03	1,07 \pm 0,03	1,09 \pm 0,04	1,08 \pm 0,04	1,14 \pm 0,11	1,15 \pm 0,08	1,15 \pm 0,11	0,37	0,00	
Du	35,9 \pm 3,5	65,6 \pm 1,4	49,3 \pm 2,0	55,1 \pm 2,7	53,6 \pm 2,6	49,0 \pm 2,6	56,8 \pm 5,8	56,1 \pm 5,8	54,0 \pm 5,5	0,48	0,00	

D: Diámetro (cm); A: Altura (cm); A/D: forma; Pe: Peso (g); VP: Vida Poscosecha del fruto (días); SS: contenido en Sólidos Solubles (° Brix); pH; AT: Acidez Titulable; L: porcentaje de reflectancia; a/b: cociente entre las absorbancias a longitudes de onda de 540 nm (a) y 675 nm (b); Du: Dureza. Cai: *Solanum lycopersicum* cv. Caimanta, Pimpi: *S. pimpinellifolium* LA722, F₁ CxP: híbrido interespecífico entre cv. Caimanta y LA722, RIL18: línea endocriada recombinante ToUNR18, RIL1: línea endocriada recombinante ToUNR1, HSC: híbrido de segundo ciclo entre ToUNR18 y ToUNR1, F₂: autofecundación del HSC (F1 ToUNR18 x ToUNR1), BC1: retrocruza de F₁ ToUNR18 x ToUNR1 hacia ToUNR18, BC2: retrocruza de F₁ ToUNR18 x ToUNR1 hacia ToUNR1, H²: heredabilidad en sentido amplio, h²: heredabilidad en sentido estricto. Para los cálculos de ambas heredabilidades, se consideró un valor significativo de p < 0,05.

D: Diameter (cm); A: Height (cm); A/D: Shape; Pe: Weight (g); VP: Postharvest life (days); SS: Soluble Solids Content (° Brix); pH; AT: Titratable Acidity; L: Reflectance percentage; a/b: ratio between absorbencies at 540 nm (a) and 675 nm (b) wavelengths; Du: firmness.

Cai: *Solanum lycopersicum* cv. Caimanta, Pimpi: *S. pimpinellifolium* LA722, F₁ CxP: interspecific hybrid among cv. Caimanta and LA722, RIL18: recombinant inbred line ToUNR18, RIL1: recombinant inbred line ToUNR1, HSC: second cycle hybrid among ToUNR18 and ToUNR1, F₂: selfing of HSC (F1 ToUNR18 x ToUNR1), BC1: backcross F₁ ToUNR18 x ToUNR1 to ToUNR18, BC2: backcross F₁ ToUNR18 x ToUNR1 to ToUNR1, H²: broad sense heritability, h²: narrow sense heritability. For calculating both heritabilities, a p-value < 0.05 was considered as statistically significant.

Tabla 2. Coeficientes de correlación fenotípica (correlación de Pearson) y coeficientes de correlación genética entre caracteres de interés agronómico en la generación segregante F₂ ToUNR18xToUNR1.

Table 2. Phenotypic correlation (Pearson correlation) and genetic correlation coefficients among traits of agronomic interest in the segregating generation F₂ ToUNR18xToUNR1.

	D	A	A/D	Pe	VP	SS	pH	AT	L	a/b	Du
D	0,84 **	-0,12 ns	0,95 **	0,18 ns	-0,24 *	0,07 ns	-0,27 *	-0,03 ns	-0,14 ns	-0,06 ns	
A	0,76	0,25 **	0,88 **	0,23 *	-0,29 **	0,12 ns	-0,37 **	-0,02 ns	-0,18 ns	-0,04 ns	
A/D	-0,15	0,36	0,01ns	0,10 ns	-0,16 ns	0,13 ns	-0,12 ns	0,07 ns	-0,12 ns	-0,01 ns	
Pe	0,89	0,76	0,09	0,20 *	-0,25 *	0,07 ns	-0,24 *	-0,02 ns	-0,17 ns	-0,04 ns	
VP	0,13	0,16	0,04	0,12	0,09ns	0,06 ns	-0,06 ns	-0,38 **	0,15 ns	0,05 ns	
SS	-0,32	-0,34	-0,25	-0,34	0,04	-0,02 ns	0,48 **	-0,32 **	0,48 **	-0,24 *	
pH	0,06	0,05	0,05	0,03	0,02	0,01	-0,57 **	-0,21 ns	0,01ns	-0,43 **	
AT	-0,35	-0,48	-0,16	-0,37	-0,08	0,37	-0,65	0,05 ns	0,35 **	0,10 ns	
L	0,02	0,01	0,02	-0,05	-0,51	-0,46	-0,34	0,01	-0,61 **	0,22 *	
a/b	-0,16	-0,19	-0,18	-0,19	0,09	0,33	0,00	0,21	-0,73	-0,12 ns	
Du	-0,12	-0,11	0,00	0,00	0,02	-0,31	-0,58	0,04	0,05	-0,17	

D: Diámetro (cm); A: Altura (cm); A/D: forma; Pe: Peso (g); VP: Vida Poscosecha del fruto (días); SS: contenido en Sólidos Solubles (° Brix); pH; AT: Acidez Titulable; L: porcentaje de reflectancia; a/b: cociente entre las absorbancias a longitudes de onda de 540 nm (a) y 675 nm (b); Du: Dureza. Coeficientes de correlación fenotípica: por encima de la diagonal principal, Coeficientes de correlación genética: por debajo de la diagonal principal. **; p < 0,01; *; p < 0,05; ns: no significativo.

D: Diameter (cm); A: Height (cm); A/D: Shape; Pe: Weight (g); VP: Postharvest life (days); SS: Soluble Solids Content (° Brix); pH; AT: Titratable Acidity; L: Reflectance percentage; a/b: ratio between absorbencies at 540 nm (a) and 675 nm (b) wavelengths; Du: firmness. Phenotypic correlation coefficients: above principal diagonal, Genetic correlation coefficients: below principal diagonal. **; p < 0,01; *; p < 0,05; ns: non significant.

Se observó en general una fuerte asociación entre ambas correlaciones respecto del signo, siendo la correlación genética menor a la fenotípica en todos los casos. Esto indica que la correlación ambiental actúa en el mismo sentido que la genética y, dado que como se mencionó anteriormente la metodología para calcular la correlación genética no permite estimar su significado estadístico, se consideró como significativas aquellas correlaciones genéticas estimadas a partir de coeficientes de Pearson significativos (tabla 2, pág. 8).

La caracterización molecular, se realizó utilizando seis combinaciones de cebadores de AFLP previamente seleccionadas por evidenciar elevado número de bandas y elevado porcentaje de polimorfismo (F, H, J, HH, II y JJ) (4).

En la F_2 , las amplificaciones de las seis combinaciones de cebadores revelaron un total de 110 bandas, de las cuales 68 (61,8%) resultaron ser polimórficas.

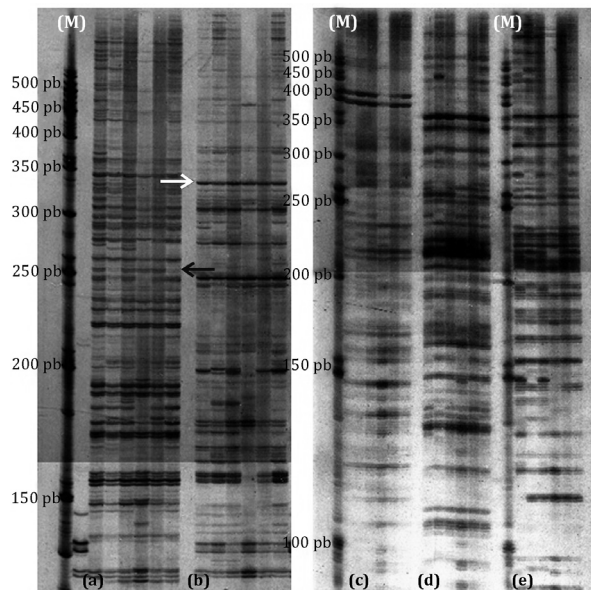
El número de fragmentos analizados fue de 29 para la combinación F, 12 para la combinación JJ, 18 para la combinación II, 24 para la combinación J, 14 para la combinación H y 13 para la combinación HH.

Tomando como referencia los perfiles de las RIL progenitoras (que se muestran junto a lo de los testigos en la figura 1, pág. 10) y por tratarse de una segregación F_2 , veintinueve (42,6%) de los 68 fragmentos analizados siguieron una distribución mendeliana de 3 : 1 (bandas polimórficas en las RIL o *de novo* en más del 10% de los individuos F_2) y 1 : 1 (bandas *de novo* en HSC), según se detalla a continuación: seis bandas en la combinación F: 363 (3 : 1), 351 (1 : 1), 283 (1 : 1), 249 (1 : 1), 246 (3 : 1), 230 (3 : 1); seis bandas en la combinación JJ: 496 (3 : 1), 468 (3 : 1), 452 (3 : 1), 144 (3 : 1), 189 (3 : 1), 213 (3 : 1); seis bandas en la combinación II: 435 (3 : 1), 282 (3 : 1), 236 (3 : 1), 232 (3 : 1),

183 (3 : 1), 159 (3 : 1); seis bandas en la combinación J: 359 (3 : 1), 315 (3 : 1), 277 (3 : 1), 271 (3 : 1), 184 (3 : 1), 177 (3 : 1); cinco bandas en la combinación H: 376 (1 : 1), 293 (1 : 1), 201 (3 : 1), 157 (3 : 1), 137 (3 : 1); ninguna banda en la combinación HH.

De las 24 bandas que ajustaron a la proporción mendeliana 3 : 1, ocho (33,3%) fueron bandas polimórficas entre las RIL progenitoras del HSC con el comportamiento esperado en la F_2 en tanto que 16 de ellas (66,7%) fueron bandas con comportamiento *de novo*, ya sea de presencia o de ausencia, en la F_2 con respecto a los genotipos uniformes de segundo ciclo (RIL y HSC).

En cuanto a las retrocruzas, las ampliificaciones de las seis combinaciones de cebadores revelaron un total de 111 bandas, de las cuales 67 (60,4%) resultaron ser polimórficas. El número de fragmentos analizados por combinación fue de: 27 para la combinación F, 28 para la combinación JJ, siete para la combinación II, 20 para la combinación J, 14 para la combinación H y 15 para la combinación HH. Quince (22,4%) de los 67 fragmentos siguieron la distribución mendeliana 1 : 1, independientemente de que provinieran de los padres o sean *de novo*, según se detalla a continuación: cinco bandas en la combinación F: 395, 388, 355, 217, 209; dos bandas en la combinación JJ: 140, 129; dos bandas en la combinación II: 307, 135; tres bandas en la combinación J: 277, 255, 179; tres bandas en la combinación H: 293, 202, 199; ninguna banda en la combinación HH. De las 15 bandas que ajustaron a la proporción 1 : 1, tres de ellas (20,0%) provenían de bandas polimórficas entre las RIL y el resto (80,0%) fueron *de novo* en el HSC o en BC.



En la imagen de la izquierda, la flecha negra señala un polimorfismo en la banda de 250 pb generada por la combinación (a), presente en el primer, tercer, cuarto y quinto genotipo y ausente en los restantes, en tanto que la flecha blanca señala una banda monomórfica 335 pb, presente en todos los genotipos.

In the left image, black arrow indicates a molecular polymorphism among genotypes in the 250 pb band generated by (a) primers' combination, which is present in the first, third, fourth and fifth genotypes but absent in the others. The white arrow indicates a monomorphic band of 335 pb, present in all the genotypes.

Figura 1. Sección de un gel de poliacrilamida mostrando los perfiles de AFLP de los 6 genotipos uniformes analizados en este trabajo con las combinaciones de cebadores (a) J, (b) H, (c) HH, (d) II y (e) JJ. (M) Marcador de peso molecular (Cincuenta Marker®). Genotipos de izquierda a derecha: *S. lycopersicum* cv. Caimanta, *S. pimpinellifolium* LA722, F₁ Caimanta x LA722, ToUNR1, ToUNR18 y F₁ ToUNR18 x ToUNR1.

Figure 1. Section of a poly-acrylamid gel showing the AFLP patterns of the 6 uniform genotypes analyzed in this research with primers' combinations (a) J, (b) H, (c) HH, (d) II y (e) JJ. (M) Molecular weight marker (Cincuenta Marker®). Genotypes from left to right: *S. lycopersicum* cv. Caimanta, *S. pimpinellifolium* LA722, F₁ Caimanta x LA722, ToUNR1, ToUNR18 and F₁ ToUNR18 x ToUNR1.

Para la detección de QTL en las generaciones segregantes, todos los caracteres mostraron una distribución normal, con excepción de vida poscosecha, acidez y pH en la F₂ y diámetro y forma en las BC.

Los dos primeros caracteres y forma se transformaron mediante Log₁₀ y resultaron normales, en tanto que para pH y

diámetro no se encontraron transformaciones con sentido biológico que se ajusten a la normal por lo que se analizaron por la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. En las tabla 3, pág. 12 y tabla 4, pág. 13, se presenta la identificación de QTL en las generaciones segregantes F₂ y retrocruzas, respectivamente.

En la F_2 se detectó un total de 28 QTL ya que 18 (62,1%) de los 29 fragmentos polimórficos que ajustaron a una segregación 1 : 1 o 3 : 1 mostraron asociación con al menos un carácter fenotípico (tabla 3, pág. 12).

De los 18 fragmentos que mostraron asociación con al menos algún carácter, 14 de ellos (77,8%) provenían de bandas polimórficas entre RIL o *de novo* en F_2 que estuvieron presentes o ausentes en más del 10% de los individuos de esta generación segregante. Ocho de los 28 QTL detectados mostraron tener el efecto esperado de acuerdo con su procedencia desde los testigos experimentales, cuatro no mostraron el efecto esperado y en 16 no se pudo calcular el efecto ya que los fenotipos de la cv. Caimanta y la entrada LA722 no discreparon entre sí o bien los QTL estuvieron marcados por bandas *de novo*. En este experimento no se detectaron QTL para a/b.

Respecto de los QTL con efectos pleiotrópicos, en la tabla 3 (pág. 12), se observa que la banda 271J estuvo asociada a peso, diámetro y altura, y en todos los casos se observó el efecto esperado sobre el carácter fenotípico de acuerdo con su procedencia desde los genotipos uniformes. Del mismo modo, la banda 201H, que estuvo asociada a peso, diámetro y pH mostró el efecto esperado sobre los dos primeros caracteres, no calculándose para pH debido a que no existieron diferencias significativas entre los parentales de primer ciclo.

La banda 277J estuvo asociada a altura y dureza y en ambos casos no presentó el efecto esperado. La banda 249F, asociada a acidez y a sólidos solubles mostró un efecto esperado respecto del primer carácter; en relación con el segundo carácter, no se pudo calcular el efecto dado que, a diferencia de lo observado en otros experimentos, en este trabajo

no se encontraron diferencias entre la cv. Caimanta y la entrada LA722.

Otras bandas que manifestaron efectos pleiotrópicos fueron 435II (asociada a diámetro y altura), 232II (asociada a altura y forma), 293H (asociada a forma y dureza) y 283F (asociada sólidos solubles y acidez), no pudiéndose cotejar sus efectos por tratarse de bandas que no diferían entre la cv. Caimanta y la entrada LA722.

Por otro lado, 21 pares de fragmentos segregaron de manera independiente y estuvieron asociados al mismo carácter, según el siguiente detalle: para peso, forma, vida poscosecha y dureza, un par; respectivamente (cuatro pares en total); para diámetro, siete pares; para altura, ocho pares y para pH, dos pares.

Los caracteres sólidos solubles y acidez no presentaron QTL marcados por pares de fragmentos que segregaron como independientes.

Con los pares de marcadores que segregaron de manera independiente se plantearon las posibles interacciones y en ninguno de los casos la interacción fue significativa.

Cabe aclarar que en el caso de pH, el método de Kruskal Wallis no permitió evaluar la interacción. Dado que una interacción significativa implica la existencia epistasis, en todos los casos, en que resultó no significativa, la interacción interloci predominante fue la aditividad.

En las retrocruzas, nueve (60,0%) de los 15 fragmentos polimórficos que ajustaron a una segregación 1 : 1 mostraron asociación con al menos un carácter fenotípico (tabla 4, pág. 13), detectándose en total 13 QTL. De los nueve fragmentos que mostraron asociación con al menos un carácter, dos de ellos (22,2%) provenían de bandas polimórficas en las RIL progenitoras, y el resto (77,8%) fueron *de novo* tanto en el HSC como en BCs.

Tabla 3. Identificación de QTL (*loci* de caracteres cuantitativos) en la generación segregante F₂ del híbrido de segundo ciclo de tomate F₁ ToUNR18 x ToUNR1 para caracteres de interés agronómico.

Table 3. Identification of QTL (quantitative trait *loci*) for trait of agronomic interest in the F₂ segregating generation of the tomato second cycle hybrid F₁ ToUNR18 x ToUNR1.

Carácter	Fragmento	Origen	p-value	R ²	Efecto del QTL	
					Presencia	Ausencia
Diámetro	271J	Ausente en RIL, P	0,020	0,09	2,35	2,64
	435II	Ausente <i>de novo</i> en F ₂	0,041	0,06	2,55	2,77
	201H	RIL18, C	0,007	0,11	2,68	2,41
	468JJ	Presente en RIL, P	0,017	0,09	2,35	2,64
	213JJ	RIL18, presente en C y P	0,026	0,08	2,64	2,36
Altura	277J	Ausente en RIL, C	0,040	0,07	2,46	2,71
	271J	Ausente en RIL, P	0,019	0,09	2,38	2,70
	435II	Ausente <i>de novo</i> en F ₂	0,008	0,11	2,59	2,90
	282II	RIL1, C	0,016	0,09	2,59	2,87
	236II	Presente en RIL, C	0,017	0,09	2,59	2,86
	232II	Ausente <i>de novo</i> en F ₂	0,029	0,07	2,60	2,85
Forma	232II	Ausente <i>de novo</i> en F ₂	0,026	0,08	1,01	1,07
	293H	Ausente <i>de novo</i> en RIL	0,024	0,08	1,00	1,05
Peso	271J	Ausente en RIL, P	0,029	0,08	8,50	11,44
	201H	RIL18, C	0,036	0,07	11,90	9,38
Vida poscosecha	183II	Ausente en RIL, C	0,001	0,15	16,07	19,75
	376H	Ausente <i>de novo</i> en RIL	0,007	0,11	20,56	17,71
Contenido en Sólidos Solubles	283F	Ausente <i>de novo</i> en F ₁ CxP	0,002	0,15	7,82	6,81
	249F	Ausente en RIL, P	0,001	0,18	7,79	6,79
	246F	Ausente <i>de novo</i> en RIL	0,009	0,11	7,62	6,68
pH	363F	Ausente <i>de novo</i> en RIL1	0,033	nc	4,78	4,90
	201H	RIL18, C	0,026	nc	4,85	4,74
	137H	Ausente <i>de novo</i> en F ₂	0,008	nc	4,84	4,69
Acidez Titulable	283F	Ausente <i>de novo</i> en F ₁ CxP	0,014	0,10	0,36	0,28
	249F	Ausente en RIL, P	0,045	0,07	0,35	0,28
L	359J	Ausente <i>de novo</i> en F ₂	0,012	0,10	39,25	40,22
Dureza	277J	Ausente en RIL, C	0,034	0,07	59,99	56,64
	293H	Ausente <i>de novo</i> en RIL	0,045	0,06	56,31	58,88

Donde:

Fragmento: banda de AFLP (polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados) identificada según su peso (en pares de bases) y la combinación de cebadores con que fue generada.

Origen: indica qué progenitor del híbrido de segundo ciclo (HSC: F₁ ToUNR18 x ToUNR1) aportó el fragmento (RIL18: ToUNR18, RIL1: ToUNR1) y de qué testigo experimental proviene (C: *Solanum lycopersicum* cv. Caimanta, P: *S. pimpinellifolium* LA722, F₁ CxP: híbrido interespecífico entre cv. Caimanta y LA722). En caso de ser un fragmento *de novo*, se indica si es por presencia o por ausencia y en qué generación se detectó dicho comportamiento.

p-value: nivel de significado estadístico de cada QTL identificado.

R²: proporción de variancia fenotípica de cada carácter explicada por el QTL identificado; nc: no calculado debido a que ni pH ni ninguna transformación con sentido biológico presentaron distribución normal por lo que se aplicó el método no paramétrico de Kruskal-Wallis para identificar QTL asociado a este carácter.

Efecto del QTL: valores medios de los grupos de plantas determinados por la presencia y por la ausencia, respectivamente, del fragmento que identifica a cada QTL.

Where:

Fragmento: AFLP (amplified fragment length polymorphism) band identified according to its molecular weight (in base pairs) and the primers' combination that generated this band.

Origen: describes the second cycle hybrid's parent contributing the respective band (RIL18: ToUNR18, RIL1: ToUNR1) and the experimental tester that originally presented this band (C: *Solanum lycopersicum* cv. Caimanta, P: *S. pimpinellifolium* LA722, F₁ CxP: interspecific hybrid among cv. Caimanta and LA722). In the case of *de novo*

fragments, it is indicated if there is a *de novo* presence or *de novo* absence as well as in which generation such a *de novo* performance was firstly detected

p-value: statistically significance level of each identified QTL.

R²: proportion of the trait's phenotypic variance explained for each identified QTL; nc: non calculated because neither pH nor any transformation with biological meaning presented normal distribution. Hence the non parametric Kruskal-Wallis test was applied to identify QTL for this trait.

Tabla 4. Identificación de QTL (*loci* de caracteres cuantitativos) en las generaciones segregantes retrocruzas del híbrido de segundo ciclo de tomate F₁ ToUNR18 x ToUNR1 para caracteres de interés agronómico.

Table 4. Identification of QTL (quantitative trait *loci*) for trait of agronomic interest in the backcross segregating generation of the tomato second cycle hybrid F₁ ToUNR18 x ToUNR1.

Carácter	Fragmento	Origen	p-value	R ²	Efecto del QTL	
					Presencia	Ausencia
Altura	179J	RIL18, P	0,049	0,11	2,79	2,53
	355F	Ausente <i>de novo</i> en F ₁ CxP	0,046	0,13	2,86	2,57
	129JJ	Presente en RIL, C	0,007	0,20	2,81	2,48
Forma	179J	RIL18, P	0,014	0,17	1,08	0,98
	135II	Ausente <i>de novo</i> en BC	0,004	0,27	1,08	0,92
	217F	Presente <i>de novo</i> en HSC	0,001	0,35	1,16	0,98
	140JJ	Ausente <i>de novo</i> en RIL	0,003	0,24	1,10	0,96
	129JJ	Presente en RIL, C	0,001	0,39	1,11	0,94
Peso	395F	Ausente en RIL, C	0,037	0,15	10,84	13,52
Contenido en	199H	Ausente <i>de novo</i> en RIL1	0,022	0,31	8,67	7,82
	307II	Presente en RIL, C	0,041	0,21	7,88	8,61
Sólidos Solubles	217F	Presente <i>de novo</i> en HSC	0,027	0,21	7,63	8,55
	129JJ	Presente en RIL, C	0,025	0,18	7,86	8,63

Donde:

Fragmento: banda de AFLP (polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados) identificada según su peso (en pares de bases) y la combinación de cebadores con que fue generada.

Origen: indica qué progenitor del Híbrido de Segundo Ciclo (HSC: F₁ ToUNR18 x ToUNR1) aportó el fragmento (RIL18: ToUNR18, RIL1: ToUNR1) y de qué testigo experimental proviene (C: *Solanum lycopersicum* cv. Caimanta, P: *S. pimpinellifolium* LA722, F₁ CxP: híbrido interespecífico entre cv. Caimanta y LA722). En caso de ser un fragmento *de*

novo, se indica si es por presencia o por ausencia y en qué generación se detectó dicho comportamiento. BC: retrocruza.

p-value: nivel de significado estadístico de cada QTL identificado.

R²: proporción de variancia fenotípica de cada carácter explicada por el QTL identificado.

Efecto del QTL: valores medios de los grupos de plantas determinados por la presencia y por la ausencia, respectivamente, del fragmento que identifica a cada QTL.

Donde:

Fragmento: AFLP (amplified fragment length polymorphism) band identified according to its molecular weight (in base pairs) and the primers' combination that generated this band.

Origen: describes the second cycle hybrid's parent contributing the respective band (RIL18: ToUNR18, RIL1: ToUNR1) and the experimental tester that originally presented this band (C: *Solanum lycopersicum* cv. Caimanta, P: *S. pimpinellifolium* LA722, F₁ CxP: interspecific hybrid among cv. Caimanta and LA722). In the case of *de novo* fragments, it is indicated if there

is a *de novo* presence or *de novo* absence as well as in which generation such a *de novo* performance was firstly detected. BC: backcross generation.

p-value: statistically significance level of each identified QTL.

R²: proportion of the trait's phenotypic variance explained for each identified QTL.

Efecto del QTL: mean values of each trait in the groups of BC plants determined by the presence and the absence of the AFLP band marking the corresponding QTL.

Dos de los 13 QTL mostraron el efecto esperado de acuerdo con los fenotipos de la cv. Caimanta y la entrada LA722, tres no mostraron el efecto esperado y en ocho de ellos no se pudo calcular el efecto, no existieron diferencias significativas entre los fenotipos de los parentales de primer ciclo o estuvieron marcados por bandas *de novo* (tabla 4, pág. 13).

La banda 129JJ estuvo asociada a altura, forma y sólidos solubles, teniendo el efecto esperado para el primer carácter, un efecto no esperado para el segundo y no pudiéndose detectar el efecto para sólidos solubles, no hubo diferencias entre la cv. Caimanta y la entrada LA722.

La banda 179J estuvo asociada a altura y forma. Para el primer carácter no se evidenció el efecto esperado, pero sí para forma.

La banda 217F (asociada a sólidos solubles y forma) también mostró pleiotropía pero no pudo cotejarse si sus efectos eran los esperados por tener un comportamiento *de novo* (tabla 4, pág. 13).

Finalmente, 10 pares de fragmentos asociados a un mismo carácter segregaron de manera independiente: cuatro pares para sólidos solubles y forma, respectivamente (ocho pares en total) y dos para altura. Al igual que en la generación F₂, ninguna interacción entre fragmentos resultó significativa.

DISCUSIÓN

Existen antecedentes (5, 7, 10) que proponen continuar el proceso de mejoramiento genético a partir de las generaciones segregantes de Híbridos de Segundo Ciclo.

En este trabajo, se verifica la presencia de valores fenotípicos de interés fitotécnico y la generación de variancia genética aditiva y no aditiva (tabla 1, pág. XXX) para caracteres de calidad de fruto en las generaciones F₂ y retrocruzas de la F₁ ToUNR18 x ToUNR1 (26), indicando que es posible detectar QTL en tales generaciones segregantes. Estas generaciones representan entonces una población base para iniciar un nuevo programa de mejoramiento que permita aprovechar las combinaciones genéticas originadas por selección y recombinación (12).

Las correlaciones genéticas significativas indican la existencia de ligamiento y/o efectos pleiotrópicos de las nuevas combinaciones genéticas originadas, ya que algunas asociaciones (como las existentes entre peso, diámetro y altura; tabla 2, pág. 8) han sido ampliamente informadas en tomate (18) pero otras, tales como las detectadas entre color, contenido en sólidos solubles y dureza, no se encuentran frecuentemente en la literatura científica.

En consecuencia, existirían poligenes ligados o que afectan simultáneamente ciertos grupos de caracteres, por lo que es esperable encontrar QTL con efectos pleiotrópicos para, como ejemplo, diámetro, altura y peso del fruto, o contenido en sólidos solubles y acidez titulable.

La posibilidad de usar eficientemente estas asociaciones depende del tipo de producto a lograr; a modo de ejemplo, la correlación genética entre dureza y contenido en sólidos solubles fue significativa y negativa, lo que podría ser desventajoso para un fruto destinado a consumo en fresco (6).

Los programas de mejoramiento genético pueden ser apoyados por herramientas biotecnológicas para incrementar la eficiencia de la selección (18).

Como antecedentes directos de este trabajo, la técnica de AFLP fue utilizada por Pratta *et al.* (2011), para caracterizar a la cv. Caimanta y la entrada LA722, la generación F_1 y las líneas endocriadas recombinantes derivadas de su cruzamiento, logrando la identificación de marcadores moleculares asociados al peso, la forma, el contenido en sólidos solubles, la acidez, el color, la dureza y la vida poscosecha de los frutos.

Con el fin de continuar avanzando en el estudio del aporte de los genes de origen silvestre para mejorar los frutos de tomate y detectar las nuevas combinaciones genéticas que pudieran haber ocurrido entre los genomas involucrados en este cruzamiento interespecífico, en la presente investigación se estudiaron las generaciones segregantes de dos de esas RIL.

Se detectó efectivamente una amplia recombinación y rearrreglo de genes durante las generaciones de autofecundación ocurridas tanto durante el proceso de selección antagónica-divergente como en el Híbrido de Segundo Ciclo F_1 ToUNR18 x ToUNR1. Esto se verifica en la gran proporción de bandas *de novo* detectadas en

los genotipos analizados, tanto de presencia como de ausencia y conforme a lo observado por algunos autores, tanto en tomate como en otros cultivos (8, 12, 31, 33).

En este experimento, y como se puede observar en la figura 1 (pág. XXX), los resultados indican que en el genoma de la F_1 ToUNR18 x ToUNR1, híbrido de segundo ciclo, se restituirían muchas de las combinaciones de *loci* que en las RIL derivadas del cruzamiento interespecífico *S. lycopersicum* x *S. pimpinellifolium* se habían perdido probablemente por la homocigosis generada en las sucesivas generaciones de autofecundación. De hecho, para una alta proporción de bandas *de novo* detectadas en esta F_1 , su comportamiento correspondió a lo observado en el grupo de los testigos experimentales.

Luego, en las las generaciones segregantes, la caracterización molecular evidenció un alto porcentaje de segregación distorsionada (mayor al 65%), lo que coincide con resultados informados en la bibliografía, en tomate y otros cultivos (13, 21, 34).

Principalmente, fue posible identificar QTL robustos dada la asociación entre los marcadores moleculares con segregación mendeliana y los caracteres de interés agronómico, existiendo notables diferencias en las bandas de AFLP que marcaron QTL en la F_2 y en las retrocruzas (tabla 3, pág. 12 y tabla 4, pág. 13). Estas diferencias pueden deberse al diferente número de individuos utilizado en cada caso, lo cual sería una desviación meramente estadística, o bien a causas genéticas tales como la diferente proporción de genoma de cada padre que ellas presentan o la diferente composición genotípica de cada una de ellas (20).

Sin embargo, en ambas generaciones los QTL identificados son lógicos en relación con el número, magnitud del efecto esperado, pleiotropía y proporción de variación fenotípica que se detectaron en este experimento, teniendo en

cuenta resultados previos del grupo de investigación (20, 21, 24, 27, 28) y de otros autores en tomate (6). De hecho, todos los efectos pleitrópicos observados para ciertos QTL verifican las correlaciones genéticas detectadas en la evaluación fenotípica.

La detección de QTL con efectos no esperados respecto de lo observado en los materiales a partir de los cuales se generaron las RIL progenitoras del HSC confirman la existencia de variación críptica (presencia en determinados genotipos de alelos con efectos diferentes al fenotipo que manifiestan, (1, 32).

Por otro lado, la imposibilidad de calcular los efectos esperados o no esperados de un QTL en aquellos casos en que se encontró un polimorfismo molecular *de novo* o una apertura de la variancia genética en las generaciones segregantes del HSC, es decir, una variancia genética significativa para caracteres que no discrepan entre los testigos experimentales, concuerda con la ocurrencia de reorganizaciones genómicas con efectos sobre la expresión fenotípica (12, 31, 34).

Finalmente, dado que todas las interacciones entre QTL fueron no significativas, se detectó ausencia de

epistasia en la determinación de los caracteres de interés agronómico evaluados (16).

En consecuencia, todas las interacciones correspondieron a aditividad interloci, siendo entonces posible explotar el efecto de dichas interacciones en un programa de mejoramiento genético por selección artificial (11).

CONCLUSIONES

El uso de AFLP permitió detectar un amplio polimorfismo molecular, pudiendo así comparar la variabilidad que existe entre las diferentes poblaciones de tomate analizadas.

El análisis de asociación llevado a cabo en las generaciones segregantes del Híbrido de Segundo Ciclo detectó QTL para todos los caracteres con excepción de a/b.

El estudio molecular y fenotípico utilizando marcadores moleculares como los AFLP en Híbridos de Segundo Ciclo y sus generaciones segregantes fue capaz de detectar nuevas combinaciones genéticas que poseen gran relevancia en el mejoramiento de los caracteres de importancia agronómica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aflitos, S.; Schijlen, E.; de Jong, H.; de Ridder, D.; Smit, S.; Finkers, R.; Wang, J.; Zhang, G.; Li, N.; Mao, L.; Bakker, F.; Dirks, R.; Breit, T.; Gravendeel, B.; Huits, H.; Struss, D.; Swanson-Wagner, R.; van Leeuwen, H.; van Ham, R.C.H.J.; Fito, L.; Guignier, L.; Sevilla, M.; Ellu, P.; Ganko, E.; Kapu, A.; Reclus, E.; de Geus, B.; van de Geest, H.; Lintel Hekkert, B.; van Haarst, J.; Smits, L.; Koops, A.; Sanchez-Perez, G.; van Heusden, A.W.; Visser, R.; Quan, Z.; Min, J.; Liao, L.; Wang, X.; Wang, G.; Yue, Z.; Yang, X.; Xu, N.; Schranz, E.; Smets, E.; Vos, E.; Rauwerda, J.; Ursem, R.; Schuit, C.; Kerns, M.; van den Berg, J.; Vriezen, J.; Janssen, A.; Datema, E.; Jahrman, T.; Moquet, F.; Bonnet, J.; Peters, S. 2014. Exploring genetic variation in the tomato (*Solanum* section *Lycopersicon*) clade by whole-genome sequencing. *The Plant Journal*. 80: 136-148.
2. Babic, M.; Bauer, I.; Babic, V.; Filipovic, M.; Andjelkovic, V. 2009. Genetic divergence of different temporal cycles of selection. *Maydica*. 54: 221-228.

3. Blears, M.; De Grandis, S.; Lee, H.; Trevors, J. 1998. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 21: 99-114.
4. Cabodevilla, V. G.; Cacchiarelli, P.; Pratta, G. 2013 AFLP characterization of uniform tomato genotypes and selection of primers that maximize the molecular polymorphism. *Biocell* 37: A94. Abs. 47.
5. De Toledo, J.; Pooni, H.; Jinks J. 1984. Predicting the properties of second cycle hybrids produced by intercrossing random samples of recombinant inbred lines. *Heredity*. 53: 283-292.
6. Díez, M. J.; Nuez, F. 2008. Tomato. In *Handbook of plant breeding. Vegetables II* (ed. by J. Prohens, F. Nuez; M. J. Carena). Springer, New York. p. 249-323.
7. Ferraz de Toledo, J. 1987. Predicting the inbreeding and the outcrossing potential of soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) varieties. *Brazilian Journal of Genetics*. 10: 543-558.
8. Gaeta, R. T.; Pires, J. C.; Iniguez-Luy, F.; Leon, E.; Osborn, T. C. 2007. Genomic changes in resynthesized *Brassica napus* and their effect on gene expression and phenotype. *The Plant Cell*. 19: 3403-3417.
9. Giovannoni, J. 2004. Genetic regulation of fruit development and ripening. *The Plant Cell*. 16: 170-180.
10. Ipsilandis, C. G.; Totaklidis, I. S.; Vafias, V.; Stefanis, D. 2006. Criteria for developing second-cycle hybrids in maize. *Asian Journal of Plant Science*. 5: 680-685.
11. Kearsy, M.; Pooni, H. 1996. *The genetical analysis of quantitative traits*. Chapman and Hall. Great Britain.
12. Liberatti, D. R.; Rodríguez, G. R.; Zorzoli, R.; Pratta, G. R. 2013. Tomato second cycle hybrids differ from their parents at three levels of genetic variation. *International Journal of Plant Breeding*. 7: 1-6.
13. Liu, X.; You, J.; Guo, L.; Liu, X.; He, Y.; Yuan, J.; Liu, G. 2011. Genetic analysis of segregation distortion of SSR markers in F2 population of barley. *Journal of Agricultural Science*. 3: 172-177.
14. López-Camelo, A.; Gómez P.; Artes F. 2003. Use of a* and b* colour parameters to assess the effect of some growth regulators on carotenoid biosynthesis during postharvest tomato ripening. *Acta Horticulturae*. 599: 305-308.
15. Marchionni Basté, E.; Liberatti, D. R.; Mahuad, S. L.; Rodríguez, G. R.; Pratta, G. R.; Zorzoli, R.; Picardi, L. A. 2010. Diallel analysis for fruit traits among tomato recombinant inbred lines derived from an interspecific cross *Solanum lycopersicum* x *S. pimpinellifolium*. *Journal of Applied Horticulture*. 15: 245-367.
16. Matos Andrade, T.; Lasmar, A.; Maluf, W. R.; Gomes, L. A. A.; de Sousa Gonçalves, R. J.; Blank, A. F. 2015. Gene action associated with heterosis expression in scarlet eggplant (*Solanum gilo* Raddi.). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 47(1): 19-31.
17. Meli, V. S.; Ghosh, S.; Parva, T. N.; Chakraborty, S.; Datta, A. 2014. Enhancement of fruit shelf life by suppressing N-glycan processing enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107: 2413-2418.
18. Menda, N.; Strickler, S.R.; Edwards, J.D.; Bombarely, A.; Dunham, D. M.; Martin, G. B.; Mejia, L.; Hutton, S. F.; Havey, M. J.; Maxwell D. J.; Mueller, L. A. 2014. Analysis of wild-species introgressions in tomato inbreds uncovers ancestral origins *BMC Plant Biology*. 14: 287 14:287.
19. Pereira da Costa, J. H.; Martínez, V. A.; Rodríguez, G. R.; Pratta, G. R.; Zorzoli, R. 2009. Influencia de genes exóticos sobre la vida en estantería y el peso del fruto de tomate. *Agriscientia*. 25: 7-13.
20. Pereira da Costa, J. H.; Rodríguez, G. R.; Pratta, G. R.; Picardi, L. A.; Zorzoli, R. 2013. QTL detection for fruit shelf life and quality traits across tomato segregating populations in tomato. *Scientia Horticulturae*. 156: 47-53.
21. Pereira da Costa, J. H.; Rodríguez, G. R.; Pratta, G. R.; Picardi, L. A.; Zorzoli, R. 2014. Pericarp polypeptides and SRAP markers associated with fruit quality traits in an interspecific tomato backcross. *Genetics and Molecular Research*. 13: 2539-2547.

22. Picardi, L. A.; Zorzoli, R.; Pratta, G. R.; Rodríguez, G. R.; Nestares, G. M. 2011. Aportes de la Cátedra de Genética de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR a la problemática del mejoramiento ovino, la calidad del fruto en el tomate y la resistencia a herbicidas. *Basic and Applied Genetics*. 22: 1-5.
23. Pooni, H. S.; Jinks, J. L. 1985. Predicting the properties of first cycle inbreds and second cycle hybrids extractable from two, three and four parent crosses. *Heredity*. 54: 397-411.
24. Pratta, G. R.; Rodríguez, G. R.; Zorzoli, R.; Valle, E. M.; Picardi, L. A. 2011. Phenotypic and molecular characterization of selected tomato recombinant inbred lines derived from a cross *Solanum lycopersicum* x *S. pimpinellifolium*. *Journal of Genetics*. 90: 229-237.
25. Robertson, A. 1959. The sampling variance of the genetic correlation coefficient. *Biometrics*. 15: 469-485.
26. Rodríguez, G. R.; Pratta, G. R.; Zorzoli, R.; Picardi, L. A. 2006. Evaluación de caracteres de planta y fruto en líneas recombinantes endocriadas de tomate. *Ciencia e Investigación Agraria*. 33: 127-135.
27. Rodríguez, G. R.; Sequin, L.; Pratta, G. R.; Zorzoli, R.; Picardi, L. A. 2008. Protein profiling in F₁ and F₂ generations of two tomato genotypes differing in ripening time. *Biologia Plantarum*. 52: 548-552.
28. Rodríguez, G. R.; Pereira da Costa, J. H.; Tomat, D. D.; Pratta, G. R.; Zorzoli, R.; Picardi, L. A. 2011. Pericarp total protein profiles as molecular markers of tomato fruit quality traits in two segregating populations. *Scientia Horticulturae*. 130: 60-66.
29. Schnettler, B.; Pihán, R.; Valdevenito, A.; Miranda, H.; Lobos, G.; Grunert, K. G. 2015. Acceptance of a vegetable with designation of origin in two cities in southern Chile. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 47(1): 173-191.
30. Schuelter, A. R.; Finger, F. L.; Casali, V. W. D.; Brommonschenkel, S. H.; Otoni, W. C. 2002. Inheritance and genetic linkage analysis of a firm-ripening tomato mutant. *Plant Breeding*. 121: 338-342.
31. Shaked, H.; Kashkush, K.; Ozkan, H.; Feldman, M.; Levy, A. A. 2001 Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat. *The Plant Cell*. 13: 1749-1759.
32. Tanksley, S. D. 1993. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics*. 27: 205-233.
33. Wang, Y. M.; Dong, Z. Y.; Zhang, Z. J.; Lin, X. Y.; Shen, Y.; Zhou, D.; Liu, B. 2005. Extensive *de novo* genomic variation in rice induced by introgression from wild rice (*Zizania latifolia* Griseb.). *Genetics*. 170: 1945-1956.
34. Zhao, B.; Deng, Q. M.; Zhang, Q. J.; Li, J. Q.; Ye, S. P.; Liang, Y. S.; Peng, Y.; Li, P. 2006. Analysis of segregation distortion of molecular markers in F₂ population of rice. *Acta Genetica Sinica*. 33: 449-457.
35. Zorzoli, R.; Pratta, G.; Picardi, L. A. 2001. Variabilidad genética para la vida poscosecha y el peso de los frutos en tomate para familias F₃ de un híbrido interespecífico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 35: 2423-2427.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por financiar esta investigación a través del PIP N° 114 201001 00082.