

# SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES EN TOMATE



Luz Caridad Banegas Carrillo, Paula Fernández Martínez.  
**Tutores:** Aranzazu Alonso Sanchís<sup>1</sup>, Pedro Carbonell Cerdá<sup>1</sup>, Santiago García Martínez<sup>1</sup>,  
 Juan José Ruiz Martínez<sup>1</sup> y Josefa Nicolás Viguera<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Escuela Politécnica Superior de Orihuela, UMH; <sup>2</sup>IES Dr. Pedro Guillén, Archena.



## INTRODUCCIÓN

Desde hace tiempo, el tomate es un cultivo de gran importancia económica en nuestro país. Sin embargo, las variedades tradicionales, de mejor sabor, presentan una gran susceptibilidad a virosis lo que provoca que en diversas zonas sea inviable el cultivo de las mismas.

Los métodos de selección de las plantas a partir de sus características fenotípicas, muchas veces se muestran poco efectivas porque se pueden producir 'escapes'. Este problema se evita empleando en la selección de las plantas técnicas con marcadores genéticos. Es en este contexto en el que se plantea la comparación de dos técnicas de selección genética molecular en plantas de tomate.

## OBJETIVOS

- I. Seleccionar plantas resistentes al virus TYLCV (cuchara) en función de sus síntomas.
- II. Utilizar marcadores moleculares CAPS para seleccionar plantas homocigóticas RR/SS y las heterocigotas RS a los tres virus: mosaico de tomate ToM, bronceado de tomate Sw-5 y TYLCV (Aps) de cuchara.
- III. Aplicar la técnica HRM como alternativa a los CAPS a la hora de seleccionar dichos genotipos.
- IV. Comparar las dos técnicas empleadas en la de selección de marcadores moleculares, destacando pros y contras de cada una de ellas.

## Trabajo de campo

## METODOLOGÍA

## Trabajo de Laboratorio

### Toma de muestras



Técnica del disco de hoja.

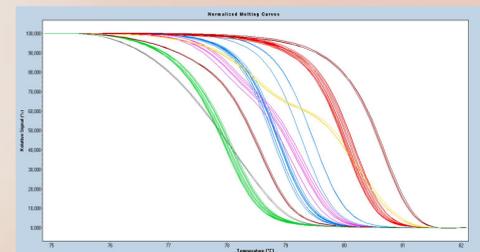


### Técnica CAPS

- a) Extracción de ácidos nucleicos
- b) Cuantificación de la extracción y amplificación mediante PCR
- c) Electroforesis de la PCR y digestión
- d) Electroforesis de la digestión

### Técnica HRM (High Resolution Melting) o de las Curvas de Fusión de Alta Resolución

Para visualizar SNPs (Single Nucleotide Polymorphism). Permite diferenciar individuos muy parecidos entre sí.



## RESULTADOS

Tabla 1. Resultados marcadores CAPS/HRM

Nombre de la muestra	RESULTADO MOSAICO		RESULTADO BRONCEADO		RESULTADO CUCHARA	
	CAPS	HRM	CAPS	HRM	CAPS	HRM
1400-1	RR	RR	RR	RR	RR	RR
CHERRY-1	SS	SS	SS	SS	SS	SS
1400-2	RR	RR	RR	RR	RR	RR
CHERRY-2	SS	SS	SS	SS	SS	SS
ORONE-1	RR	RR	SS	SS	SS	SS
ORONE-2	RR	RR	SS	SS	SS	SS
1200x4-1	Rs	Rs	Rs	Rs	Rs	Rs
1200x4-2	Rs	Rs	Rs	Rs	Rs	Rs
MARMANDINO-2	Rs	Rs	SS	SS	SS	SS
MARMANDINO-3	Rs	Rs	SS	SS	SS	SS
271	RR	RR	SS	SS	SS	SS
273	RR	RR	SS	SS	SS	SS
274	RR	RR	SS	SS	SS	SS
595	RR	RR	SS	SS	SS	SS
Control 3 RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
Control 3 Rs	Rs	Rs	Rs	Rs	SS*	Rs
Control 3 ss	SS	SS	SS	SS	SS	SS

Imagen 1: Electroforesis del marcador CAPS ligado al gen de resistencia a TYLCV.

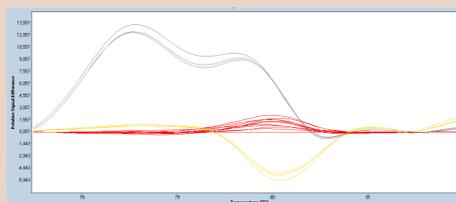
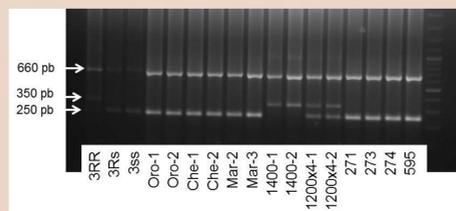


Imagen 2: HRM para marcador C4 ligado a TYLCV. Línea amarilla: genotipo RR, línea gris: Rs, línea roja: ss

## CONCLUSIONES

1. La técnica de marcadores moleculares CAPS ha demostrado ser eficaz para seleccionar plantas con un genotipo concreto: homocigotas (resistentes o sensibles) y heterocigotas, para los tres virus estudiados.
2. La técnica HRM muestra una eficacia semejante a la anterior a la hora de diferenciar estos genotipos.
3. La técnica HRM presenta ventajas sobre la técnica de marcadores moleculares CAPS: rapidez, sencillez y facilidad de interpretación de los resultados.
4. Las técnicas moleculares suponen una clara ventaja sobre la selección fenotípica, ya que eliminan la posibilidad de "escapes" (falsos resistentes), son más rápidas y no hace falta la presencia del virus.

García-García, P. (2004). Herramientas biotecnológicas y uso de recursos filogenéticos. En: Resistencia genética a patógenos vegetales. Nuez, F., Carrillo, J. M. y Pérez de la Vega, M., (Eds). Editorial de la UPV. múltiple de genes de resistencia a virosis (ToMV, TSGarcía-Martínez, S., Sánchez, C., Castelló, J., Grau, A., Valero, M., Ferrández, A., y Ruiz, J.J. (2003). Empleo de marcadores moleculares para la introducción WV y TYLCV en variedades tradicionales de tomate alicantinas. Agrícola Vergel 255:140-143.

