

# RIQUEZA ALÉLICA DE POBLACIONES NATIVAS DE JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) PARA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO

## ALELLIC RICHNESS OF NATIVE TOMATO POPULATIONS (*Solanum lycopersicum* L.) FOR PLANT BREEDING

Ivan M. Marin-Montes<sup>1</sup>, Ricardo Lobato-Ortiz<sup>1\*</sup>, Guillermo Carrillo-Castañeda<sup>1</sup>, Juan E. Rodríguez-Pérez<sup>2</sup>, J. Jesús García-Zavala<sup>1</sup>, Ángela M. Velasco-García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. (rlobato@colpos.mx). <sup>2</sup>Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnología, Carretera México-Texcoco km 38.5, 56230, Chapingo, Estado de México, México.

### RESUMEN

El mejoramiento genético del jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) lo limita su base genética estrecha. Esta puede ampliarse con poblaciones nativas y silvestres, como fuente de alelos útiles, para incrementar el rendimiento, calidad, resistencia a factores bióticos y abióticos que generan estrés. Las recolectas de jitomate nativo de México poseen mayor diversidad genética que el germoplasma élite; esto indica que se pueden seleccionar genotipos con características agronómicas, morfológicas y alélicas diferentes al germoplasma élite. Por lo tanto, nuestro objetivo fue evaluar la diversidad genética de 26 accesiones de jitomate nativo de México, para identificar las promisorias para el mejoramiento genético. La caracterización fue agro-morfológica con 20 caracteres en un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones, y molecular con marcadores SSR. Los análisis de componentes principales y de agrupamiento jerárquico permitieron identificar cuatro grupos con características sobresalientes en componentes del rendimiento, tamaño y calidad interna de fruto. Con los marcadores moleculares se calculó el índice de Shannon, índice de Nei y distancia genética de Roger, desde los cuales se generaron siete grupos, que tuvieron coeficientes de endogamia y fijación cercanos a 1; esto indicó la presencia de endogamia y diferencias amplias dentro de los grupos identificados. Con ambas caracterizaciones y distancia de Gower, se observó la separación de las especies *S. lycopersicum* L. y *S. pimpinellifolium* L. Los genotipos nativos de México poseen gran diversidad genética y variabilidad alélica que permite su uso en diferentes programas de mejoramiento genético para incorporar alelos para componentes de rendimiento, tamaño y contenido de azúcares en el jitomate cultivado.

### ABSTRACT

Tomato's (*Solanum lycopersicum* L.) narrow genetic background limits its genetic improvement. The tomato genetic base may be broaden with the use of its native and wild populations as they are a source of useful alleles, to increase yield, quality, and resistance to biotic and abiotic factors that cause stress. Native tomato collections from Mexico have a greater genetic diversity than that of elite germplasm; this implies that genotypes with agronomic, morphological and allelic characteristics different from such elite germplasm may be selected. Therefore, our objective was to evaluate the genetic diversity of 26 accessions of native Mexican tomatoes and identify the best ones for their use in tomato breeding. An agromorphological characterization with 20 traits in a completely randomized experimental design with three replications was performed along with a study with molecular SSR markers. The principal components analysis and hierarchical grouping allowed to identifying four groups with outstanding yield, size and internal fruit quality characteristics. The molecular markers were used to calculate the Shannon index, Nei index and Roger genetic distance, from which they generated seven groups, whose inbreeding and fixation coefficients were close to 1. This indicated the presence of inbreeding and wide differences within of the identified groups. With both characterizations and the Gower distance, the separation of *S. lycopersicum* L. and *S. pimpinellifolium* L. species was determined. The native Mexican tomato genotypes possess great genetic diversity and allelic variability that would allow their use in different breeding programs to incorporate alleles for yield and yield components, size and sugars content in the cultivated tomatoes.

\*Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: noviembre, 2017. Aprobado: mayo, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 53: 355-370. 2019.

**Key words:** Genetic diversity, molecular markers, morphological markers, genetic structure, *S. lycopersicum* L., *S. pimpinellifolium* L.

**Palabras clave:** diversidad genética, marcadores moleculares, marcadores morfológicos, estructura genética, *S. lycopersicum* L., *S. pimpinellifolium* L.

## INTRODUCCIÓN

El mejoramiento genético vegetal es una ciencia multidisciplinaria aplicada. En ella se emplean diferentes áreas del conocimiento para la creación, selección y fijación de fenotipos en el desarrollo de cultivares mejores que se ajusten a las necesidades de productores y consumidores (Gepts y Hancock, 2006; Moose y Muhm, 2008). Los objetivos principales del mejoramiento genético son aumento del rendimiento, calidad nutraceutica y caracteres de valor comercial (Moose y Muhm, 2008). Para cumplirlos se podrían usar diferentes alelos alternativos que están en los parientes silvestres y nativos de cada especie porque tuvieron diferentes procesos de evolución y domesticación a la par de las necesidades humanas (Varshney *et al.*, 2009).

Las variedades comerciales o germoplasma élite perdieron variabilidad genética porque se sometieron a selección y mejoramiento, lo que causó una reducción severa de su base genética (Fernie *et al.*, 2006). Por esto es importante establecer estrategias de conservación y uso de la variación genética natural existente. Para ello se realizaron evaluaciones agronómicas, morfológicas y moleculares en diferentes accesiones de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) silvestre, nativo y cultivado, para identificar genotipos como fuente de alelos para el mejoramiento del cultivo (Lobato *et al.*, 2012; Bonilla-Barrientos *et al.*, 2014; Flores-Hernández *et al.*, 2017).

Para el jitomate nativo de México se propusieron diversas formas de agrupación con base en diferentes caracteres morfológicos como tamaño de planta, forma, color, peso y tamaño de fruto, y número de lóculos por fruto (Lobato *et al.*, 2012; Marín-Montes *et al.*, 2016). Asimismo, se identificaron caracteres favorables para rendimiento y sus componentes (Pinacho *et al.*, 2011; Martínez-Vásquez *et al.*, 2017), para calidad interna de fruto (Vela-Hinojosa *et al.*, 2018) y para tolerancia a *Meloidogine incognita* (Cervantes-Moreno *et al.*, 2014).

El uso de marcadores moleculares del tipo microsatélites en jitomate permitió evaluar la diversidad y detectar alelos únicos en jitomate. Así, Benor *et al.*

## INTRODUCTION

Plant breeding is an applied multidisciplinary science. It uses different knowledge areas to generate, select and fix phenotypes in the development process for obtaining cultivars that better adjust to producer's and consumer's needs (Gepts and Hancock, 2006; Moose and Muhm, 2008). The main objectives of plant breeding are increasing yield, nutraceutical quality and commercial value traits (Moose and Muhm, 2008). To achieve them, different alternate alleles found in the wild and native populations of each species could be used, because they underwent different evolutionary and domestication processes, following human needs (Varshney *et al.*, 2009).

Commercial varieties or elite germplasm lost genetic variability because they underwent selection and improvement, which caused the severe reduction of their genetic base (Fernie *et al.*, 2006). For this reason, it is important to establish conservation strategies and usage of their existing natural genetic variation. To do this, agronomic, morphological and molecular evaluations were conducted on different accessions of wild and native tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to identify genotypes as a source of alleles for crop improvement (Lobato *et al.*, 2012; Bonilla-Barrientos *et al.*, 2014; Flores-Hernández *et al.*, 2017).

For the native Mexican tomatoes, different forms of grouping were assessed based on different morphological characters such as plant size, color, shape, weight and fruit size, and number of locules per fruit (Lobato *et al.*, 2012; Marín-Montes *et al.*, 2016). Likewise, favorable characters were identified for yield and its components (Pinacho *et al.*, 2011, Martínez-Vásquez *et al.*, 2017), for internal fruit quality (Vela-Hinojosa *et al.*, 2018) and for tolerance to *Meloidogine incognita* (Cervantes-Moreno *et al.*, 2014).

The use of microsatellite molecular markers (SSR) in tomato allows the evaluation of genetic diversity and detection of unique alleles. Thus, Benor *et al.* (2008) detected 150 alleles in 35 *loci* from 39 inbred tomato lines, which facilitated the design of crosses between evaluated lines. Zhou *et al.* (2015a) found 52 alleles in 43 tomato accessions (14 wild and 29 cultivated), and Zhou *et al.* (2015b) evaluated 48 tomato cultivars from America, China and Europe in which they detected 54 different alleles. Phan *et al.* (2016) evaluated 62 F1

(2008) detectaron 150 alelos en 35 loci de 39 líneas endogámicas de jitomate, lo que facilitó el diseño de cruza entre las líneas evaluadas. Zhou *et al.* (2015a) encontraron 52 alelos en 43 accesiones de jitomate (29 cultivados y 14 silvestres), y Zhou *et al.* (2015b) evaluaron 48 cultivares de jitomate de América, China y Europa en los cuales detectaron 54 alelos diferentes. Phan *et al.* (2016) evaluaron 62 cultivares F<sub>1</sub> de jitomate comercial y determinaron tres grupos con base en el tipo de crecimiento y forma de fruto.

México es considerado el centro de diversificación del jitomate debido a una amplia variabilidad genética (Blanca *et al.*, 2013). Esto sugiere que el jitomate nativo posee mayor diversidad genética que el germoplasma élite para caracteres de rendimiento y calidad de fruto, y tolerancia a factores adversos bióticos y abióticos. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la diversidad genética y riqueza alélica de 26 accesiones de jitomate nativo de México, con marcadores moleculares microsatélites (SSR) y caracteres agronómicos y morfológicos, para seleccionar genotipos con caracteres sobresalientes y puedan usarse en programas de conservación y mejoramiento genético de jitomate.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Programa de Conservación y Mejoramiento de los Recursos Genéticos del Jitomate, del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México.

### Material vegetal

En este estudio se evaluaron 26 accesiones de jitomate: 16 originarias de Puebla (cinco de tipo riñón, dos del tipo calabaza, cinco tipo pimienta, dos tipo cereza y dos tipo ojo de venado), cinco accesiones de Oaxaca (cuatro tipo riñón y una tipo ojo de venado), y cinco accesiones de Veracruz (tres tipo cereza y dos tipo ojo de venado). Dos variedades comerciales: el híbrido SUN7705 (Nunhems®, Israel), un jitomate cereza (Rancho Molinos®, México) y la accesión LA11904 (*S. pimpinellifolium* L.) se emplearon como testigos.

### Caracterización agro-morfológica

La caracterización agro-morfológica se realizó en el 2016 en invernadero con un sistema de producción hidropónico. Los genotipos se establecieron en un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones, la unidad experimental consistió de

cultivares from commercial tomatoes and determined three groups based on the growth type and fruit shape.

Mexico is considered the center of tomato diversification due to the wide genetic variability found in this country (Blanca *et al.*, 2013). This suggests that native tomatoes have greater genetic diversity than the elite germplasm in their yield and fruit quality traits, and tolerance to biotic and abiotic adverse factors. Therefore, the objective in this research was to evaluate the genetic diversity and allelic richness of 26 native Mexican tomato accessions, based on molecular microsatellite markers (SSR) and in agronomic and morphological characters, to select genotypes with outstanding characters to be used in tomato conservation and breeding programs.

## MATERIALS AND METHODS

This study took place in the Program for Conservation and Improvement of the Genetic Resources of Tomato of the Colegio de Postgraduados, at Montecillo, Estado de México.

### Germplasm

In this study, 26 tomato accessions were evaluated: 16 from Puebla (five kidney, two pumpkin, five pepper, two cherry and two deer eye types), five accessions from Oaxaca (four kidney type and one deer eye type), and five accessions from Veracruz (three cherry type and two deer eye type). The commercial varieties hybrid 'SUN7705' (Nunhems®, Israel) and a cherry tomato (Rancho Molinos®, Mexico) along with the native accession LA11904 accession (*S. pimpinellifolium* L.) were used as controls.

### Agro-morphological characterization

The agro-morphological characterization was carried out in 2016 at a greenhouse with a hydroponic production system. The genotypes were established in a completely randomized experimental design with three replications, the experimental unit consisted of eight plants, with one plant per bag. Planting started on March 12, 2016 in 200-cavities polystyrene trays filled with peat moss (Kekkila®, Finland) as a substrate. Transplant was performed 35 d after sowing.

The plants were established in black polyethylene bags (12 L), with volcanic sand as substrate and Steiner (1984) nutrient solution with pH 5 and daily irrigated four times. The plants were led to a main stem; these were blunted 90 d after transplant. Imidacloprid and 50 Lambda cyhalothrin + 100 Chlorantraniliprole were used to control *Bemisia tabaci* Gennadius; carboxamide, Metalaxyl-

ocho plantas, con una planta por bolsa. La siembra se realizó el 12 de marzo de 2016 en charolas de poliestireno de 200 cavidades que se llenaron con peat moss (Kekkila®, Finlandia) como sustrato, y el trasplante se realizó 35 d después de la siembra.

Las plantas se establecieron en bolsas negras de polietileno (12 L), con arena volcánica como sustrato y solución nutritiva Steiner (1984) con pH 5 y cuatro riegos diarios. Las plantas se condujeron a un tallo principal, estas se despuntaron 90 d después de trasplante. Imidacloprid y 50 Lambdacihalotrina + 100 Clorantiraniliprole se usaron para controlar *Bemisia tabaci* Gennadius; carboxamida, Metalaxil-M + Clorotalonil para controlar *Phytophthora infestans* y azoxistrobina para el control de *Alternaria solani*.

La caracterización agro-morfológica empleó 20 caracteres cuantitativos sugeridos por IPGRI (1996): días a floración del primer racimo después de trasplante (DF1), días a maduración del primer racimo después de trasplante (DM), número de flores del tercer racimo (NFL3), número total de racimos (NRT), número total de hojas (NH), número de frutos del tercer racimo (NFR3), número total de frutos por planta (NTF) y número de lóculos por fruto (NL). Las variables altura al primer racimo (AR1), distancia entre el tercer y cuarto racimo (DR), longitud de hoja del tercer racimo (LH) y longitud del tercer racimo (LR) se registraron en cm y altura de planta (AP) en m, y se empleó un flexómetro (TRUPER®, FH-3M, China). El diámetro de tallo (DT) se registró en cm con un calibrador digital de 6, milimétrico y estándar (TRUPER®, CALDI-6MP, México). El peso promedio de fruto (PPF) se registró en g y el rendimiento total por planta (PT) se evaluó en kg con una balanza digital (Ohaus®, SP2001, México). Las variables diámetro ecuatorial de fruto (DE), diámetro polar de fruto (DP) se midieron en cm con el calibrador digital antes descrito. Sólidos solubles totales (B) se evaluaron con un refractómetro digital (ATAGO®, PAL-1, Japón) con un rango de 0.0 a 53 ° Brix. Firmeza de fruto (F) se midió en newtons (N) con un texturómetro (Stable Micro Systems®, TA.XT2i, Reino Unido) con punta cilíndrica de 0.2 mm, a una distancia de penetración de 2 mm. Los caracteres de fruto, excepto PF, se evaluaron en cinco frutos de cada planta de la unidad experimental.

### Caracterización molecular

El tejido vegetal fresco utilizado se obtuvo de 10 plántulas diferentes con edad de 20 d después de siembra, y se obtuvieron de semilla cosechada por el método de selección masal durante la caracterización agro-morfológica.

La extracción de ADN se realizó con el método de CTAB modificado por Bernatzky y Tanksley (1986). La concentración de DNA ( $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) y calidad 260/280 se determinaron con un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific®,

M + Chlorothalonil to control *Phytophthora infestans* and azoxystrobin to control *Alternaria solani*.

The agro-morphological characterization used 20 quantitative characters suggested by the IPGRI (1996): days to flowering of the first cluster after transplanting (DT1), days to ripening of the first cluster after transplanting (MD), number of flowers of the third cluster (NFLR3), total number of clusters (TRN), total number of leaves (NH), number of fruits of the third cluster (NFR3), total number of fruits per plant (TFN) and locule number per fruit (LN). The variables height to the first cluster (RH1), distance between the third and fourth cluster (RD), third cluster leaf length (LL) and length of the third cluster (RL) were recorded in cm and plant height (PH) in m. To assess the above a measure tape was used (TRUPER®, FH-3M, China). Stem diameter (SD) was recorded in cm with a 6-millimeter digital standard calibrator (TRUPER®, CALDI-6MP, Mexico). The average fruit weight (AFW) was recorded in g and the total yield per plant (TY) was evaluated in kg on a digital scale (Ohaus®, SP2001, Mexico). The equatorial fruit diameter (ED) and fruit polar diameter (PD) variables were measured in cm with the digital caliper described above. Total soluble solids (B) were evaluated with a digital refractometer (ATAGO®, PAL-1, Japan) with a 0.0 to 53 °Brix range. Fruit firmness (F) was recorded in newtons (N) in a texturometer (Stable Micro Systems®, TA.XT2i, United Kingdom) with a 0.2 mm cylindrical tip, at a 2 mm penetration distance. The fruit characters, except PF, were evaluated in five fruits of each plant from each experimental unit.

### Molecular characterization

The fresh plant tissue used for molecular characterization was obtained from 10 different seedlings 20 d after sowing; seedlings came from seeds of plants harvested by mass selection during the agro-morphological characterization.

DNA extraction was performed *via* the CTAB method modified by Bernatzky and Tanksley (1986). The DNA concentration ( $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) and quality 260/280 were determined with a NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific®, USA). The working dilution for each genotype was performed at a final  $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  concentration.

A polymerase chain reaction (PCR) was performed for 18 pairs of microsatellite primers (Table 1). The PCR reaction ("master mix") had a final volume of  $675 \mu\text{L}$ , from these,  $455.7 \mu\text{L}$  were molecular biology grade water (SIGMA®, USA),  $124 \mu\text{L}$  of 10x reaction buffer (Invitrogen®, Brazil),  $37.2 \mu\text{L}$   $\text{MgCl}_2$  (Invitrogen®, Brazil)  $12.4 \mu\text{L}$  dNTP's (SIGMA®, USA),  $31 \mu\text{L}$  of the Forward primer (Invitrogen®, Brazil),  $31 \mu\text{L}$  of the Reverse primer (Invitrogen®, Brazil) and  $6.2 \mu\text{L}$  of Taq polymerase (Thermo Fisher Scientific®, USA). To each DNA sample ( $3.5 \mu\text{L}$ )  $22.5 \mu\text{L}$

EUA). La dilución de trabajo de cada genotipo se realizó a una concentración final de  $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ .

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó para 18 pares de iniciadores tipo microsatélite (Cuadro 1). La reacción de PCR ("master mix") tuvo un volumen final de  $675 \mu\text{L}$ , de estos,  $455.7 \mu\text{L}$  fueron de agua grado biología molecular (SIGMA®, EE.UU.),  $124 \mu\text{L}$  de amortiguador de reacción 10x (Invitrogen®, Brasil),  $37.2 \mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (Invitrogen®, Brasil)  $12.4 \mu\text{L}$  de dNTP's (SIGMA®, EE.UU.),  $31 \mu\text{L}$  del iniciador Forward (Invitrogen®, Brasil),  $31 \mu\text{L}$  del iniciador Reverse (Invitrogen®, Brasil) y  $6.2 \mu\text{L}$  de Taq polimerasa (Thermo Fisher Scientific®, EE.UU.). A cada muestra de ADN ( $3.5 \mu\text{L}$ ) se agregaron  $22.5 \mu\text{L}$  de master mix, para obtener  $26 \mu\text{L}$  de master mix cuya concentración final fue 1.6x para el amortiguador de reacción,  $2.4 \mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$ ,  $0.04 \mu\text{L}$  de dNTP's,  $0.4 \mu\text{L}$  de iniciador Forward,  $0.4 \mu\text{L}$  de iniciador reverse, una unidad de Taq polimerasa y 35 ng de ADN.

La amplificación se realizó en un termociclador Gene Amp® PCR System 9700 (Applied Biosystem, Singapur), y se usó el programa de PCR "touchdown" (CYMMYT, 2006).

El patrón de bandeo se obtuvo con electroforesis vertical (MG33-1063, C.B.S. Scientific®, EE.UU.) mediante geles de acrilamida a 8 % (CIMMYT, 2006). La separación de fragmentos en iniciadores de 100 a 200 pares de base (pb) de peso molecular se realizó durante 100 min a 250 volts. La separación de fragmentos para iniciadores con más de 200 pb de peso molecular se realizó

of master mix were added, to obtain  $26 \mu\text{L}$  of master mix with a 1.6x final concentration for the reaction buffer,  $2.4 \text{ mL}$   $\text{MgCl}_2$ ,  $0.04 \mu\text{L}$  dNTP's,  $0.4 \mu\text{L}$  Forward primer,  $0.4 \mu\text{L}$  reverse primer, one Taq polymerase unit and 35 ng DNA.

The amplification was performed in a Gene Amp® PCR System 9700 thermal cycler (Applied Biosystem, Singapore) using the "touchdown" PCR program (CYMMYT, 2006).

The assessment of banding pattern was carried out with vertical electrophoresis (MG33-1063, C.B.S. Scientific®, USA) using 8 % acrylamide gels (CIMMYT, 2006). The fragments separation in initiators of 100 to 200 base pairs (bp) of molecular weight was carried out for 100 min at 250 volts. Fragments separation for initiators with more than 200 bp molecular weight was carried out for 150 min at 300 volts. The gels development was done with  $\text{AgNO}_3$  (SIGMA®, USA) with a methodology from CIMMYT (2006). The gels were then documented with a MiniBis Pro 16 mm transluminator (Bio Imaging Systems®, Israel).

### Statistical analysis

### Agro-morphological characterization

We carried out the Kaiser test (1974) with the package Psych version 1.7.8. Then, the principal components analysis (Jolliffe, 2002) was done with the package Stats 3.5.0 to eliminate statistical colinearity and select the variables with the greatest

**Cuadro 1. Microsatélites usados en la evaluación molecular.**

**Table 1. Microsatellites used in molecular evaluation.**

| Loci   | Motif                  | Cr <sup>¶</sup> | PM <sup>□</sup> | Tm <sup>¶¶</sup> |
|--------|------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| SSR42  | CTT (6)                | 1               | 182             | 50               |
| SSR65  | AG (5) TG (7)          | 1               | 230             | 50               |
| SSR316 | AG (6) TTGCAG (2)      | 1               | 215             | 45               |
| SSR5   | CAA (6)                | 2               | 196             | 60               |
| SSR32  | TTC (7)                | 2               | 186             | 60               |
| SRR601 | ATA (9)                | 3               | 166             | 60               |
| SSR111 | TC (6) TCTG (6)        | 3               | 188             | 50               |
| SSR320 | AT (12)                | 3               | 171             | 50               |
| SSR146 | AT (7) CAT (5)         | 4               | 243             | 60               |
| TOM210 | ATA (15)               | 4               | 218             | 54               |
| SSR296 | AT (10)                | 4               | 170             | 56               |
| SSR306 | ATT (7)                | 4               | 258             | 54               |
| SSR128 | CAG (6) CAA (3)GAG (7) | 6               | 123             | 56               |
| SSR276 | ATG (7) ATT (7)        | 7               | 148             | 50               |
| SSR286 | CAG (8)                | 7               | 107             | 56               |
| SSR327 | AAT (7)                | 8               | 149             | 50               |
| SSR248 | TA (21)                | 10              | 249             | 50               |
| TOM144 | TAT (15) TGT (4)       | 11              | 144             | 54               |

¶Cr=cromosoma. □PM=peso molecular (pb) ¶¶Tm=temperatura de alineamiento (° C).

❖ ¶Cr=chromosome. □PM=molecular weight (mw). ¶¶Tm=alignment temperature (° C).



durante 150 min a 300 volts. El revelado de los geles se hizo con  $\text{AgNO}_3$  (SIGMA®, EE.UU.) con la metodología de CIMMYT (2006). Los geles se documentaron con un transiluminador MiniBis Pro 16 mm (Bio Imaging Systems®, Israel).

### Análisis estadístico

#### Caracterización agro-morfológica

La prueba de Kaiser (1974) se realizó con el paquete Psych versión 1.7.8. Después se efectuó el análisis de componentes principales (Jolliffe, 2002) con el paquete Stats 3.5.0 para eliminar colinealidad estadística y seleccionar las variables de mayor varianza explicativa para los componentes principales seleccionados mediante la metodología de Hair *et al.* (1999), y estas variables se usaron para el análisis de agrupamiento jerárquico.

La matriz de distancias euclidianas se calculó con el paquete Factoextra 1.0.5 para realizar el método de agrupamiento de pares con la media aritmética no ponderada (UPGMA) con el procedimiento hclust del paquete Stats 3.5.0. La altura de corte para el dendrograma se efectuó con el paquete estadístico Nbclust 3.0 (Charrad *et al.*, 2014). La validez del método de agrupamiento se comprobó con la prueba de Sokal y Rohlf (1962) con el paquete Graphics 3.4.1. Los paquetes mencionados se ejecutaron en el software R 3.4.1. Después del análisis de agrupamiento se realizó un ANDEVA combinado y comparación de medias por la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para las variables de mayor interés del programa de conservación y mejoramiento mencionado, y estos análisis se realizaron con SAS® 9.0 (SAS Institute Inc., 2002).

#### Caracterización molecular

Los alelos se determinaron con base a su peso molecular y se usó el software Gel Quant Express. Para cada marcador y población se usaron diferentes tipos de análisis exploratorios y aplicados. Los análisis exploratorios fueron: número de *loci* polimórficos (NLP), número de alelos observados (NAO), número promedio de alelos por locus (NPA) y contenido de información polimórfica (PIC), este último se calculó con la fórmula propuesta por Weir (1996). Los análisis aplicados fueron: heterocigosidad observada (HO), heterocigosidad esperada (HE), número efectivo de alelos (NEA), índice de Shannon (IS), distancia genética de Rogers (DGR), índice de Nei (NEI) y análisis de agrupamiento por el método UPGMA. El número de grupos se determinó con la estadística de gap (Tibshirani *et al.*, 2001) mediante el paquete Cluster 2.0.6 del software R.3.4.1.

Después del análisis de agrupamiento, los análisis mencionados y el coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) e índice de fijación ( $F_{ST}$ )

explanatory variance for the main components selected by the Hair *et al.* (1999) procedure, these variables were used for a hierarchical grouping analysis.

The Euclidean distance matrix was calculated with the Factoextra 1.0.5 package, used to perform the clustering pairs method with the unweighted arithmetic mean (UPGMA) with the hclust procedure from the Stats 3.5.0 package. The cutting height for the dendrogram was assessed with the Nbclust 3.0 statistical package (Charrad *et al.*, 2014). The validity of the grouping method was tested with the Sokal and Rohlf (1962) test in the Graphics 3.4.1 package. The mentioned packages were executed in R software 3.4.1. After the cluster analysis was done, a combined ANOVA and means comparison were performed by the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ) for the traits of greatest interest of the aforementioned tomato breeding program, these analyzes were performed in SAS® 9.0 (SAS Institute Inc., 2002).

#### Molecular characterization

Alleles were determined based on their molecular weight, for it, the Gel Quant Express software was used. Different types of exploratory and applied analyzes were used for each marker and population. The exploratory analyzes were: number of polymorphic loci (NPL), number of observed alleles (NOA), average number of alleles per locus (NAP) and polymorphic information content (PIC), the latter calculated with the formula proposed by Weir (1996). The applied analyzes were: observed heterozygosity (OH), expected heterozygosity (EH), effective number of alleles (ENA), Shannon index (SI), Roger's genetic distance (RGD), Nei index (NEI) and cluster analysis by the UPGMA method. The number of groups was determined *via* gap statistics (Tibshirani *et al.*, 2001) using the Cluster 2.0.6 package of the R 3.4.1 statistical software.

After the cluster analysis, the analyzes mentioned above and the inbreeding coefficient ( $F_{IS}$ ) and index fixation ( $F_{ST}$ ) were performed for the identified groups in the molecular characterization. The NPL, NOA, EH, OH, ENA, SI, NEI,  $F_{IS}$  and  $F_{ST}$  variables were calculated with the POPGEN 1.32 software; the DGR matrix and dendrogram were produced on NTSYS 2.1.

#### Joint evaluation

The correlation between the distance matrix of both characterizations was calculated using the Mantel (1967) test with 999 permutations and 0.001 significance with Vegan 2.4.4. The Gower distance (1971) was used to analyze the joint matrix of agro-morphological and molecular data, this distance was calculated with the FD 1.0-12 package. A joint dendrogram was generated with the UPGMA method and the Gower distance using Stats

se realizaron para los grupos identificados en la caracterización molecular. Las variables NLP, NAO, HE, HO, NEA, IS, NEI,  $F_{IS}$  y  $F_{ST}$  se calcularon con el software POPGEN 1.32; la matriz de DGR y dendrograma se realizaron con NTSYS 2.1.

#### Evaluación conjunta

La correlación entre la matriz de distancias de ambas caracterizaciones se calculó mediante la prueba de Mantel (1967) con 999 permutaciones y significancia de 0.001 con Vegan 2.4.4. La distancia de Gower (1971) se empleó para analizar la matriz conjunta de datos agro-morfológicos y moleculares, esta distancia se calculó con el paquete FD 1.0-12. El dendrograma conjunto se generó con el método UPGMA y distancia de Gower mediante Stats 3.5.0. El número de grupos se decidió con la prueba Silhouette (Kaufman y Rousseeuw, 1990) con Cluster 3.0 del software R 3.4.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización agro-morfológica

La matriz de datos morfológicos presentó un coeficiente de 0.76 para la prueba de Kaiser (1974), por lo que cumple los requerimientos para análisis de componentes principales, eligiéndose los tres primeros con valores propios de 3.27, 1.79 y 1.54, y explicación de la variación fenotípica de 53.5 %, 16.1 % y 11.9 %, respectivamente, para cada componente.

El primer componente se asoció a DP y DF en forma negativa y NH en forma positiva. El segundo componente presentó correlación negativa para LR, DR y NL. El tercer componente se explicó por NFL3, NFR3 y NTF en forma negativa y AP de forma positiva. La variación fenotípica total de jitomates cultivados, silvestres y líneas de introgresión (Zhou *et al.*, 2015a) y jitomates silvestres y semidomesticados (Carrillo y Chávez, 2010) se explicó en 78.54 % y 86.25 % a partir de los primeros tres componentes principales asociados con características de hoja, tamaño de planta, floración, madurez de frutos, número de frutos; se presentaron valores y asociaciones similares para las evaluaciones ya mencionadas.

La dispersión de genotipos (Figura 1) permitió separar *S. pimpinellifolium* L. del resto de los genotipos de *S. lycopersicum* L., y Álvarez *et al.* (2001) determinaron que ambas especies están relacionadas.

3.5.0. The number of groups was decided with the Silhouette test (Kaufman and Rousseeuw, 1990) in the Cluster 3.0 software R 3.4.1.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Agro-morphological characterization

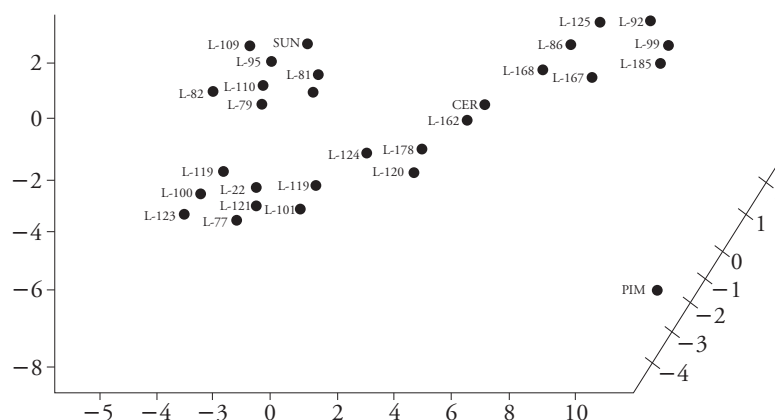
The morphological data matrix presented a 0.76 coefficient for the Kaiser (1974) test, so it met the requirements to perform the principal components analysis, in which we choose the first three eigenvalues with 3.27, 1.79 and 1.54, and explanation of the phenotypic variation of 53.5 %, 16.1 % and 11.9 %, respectively, for each component.

The first component was negatively correlated with PD and DT and positively to NH. The second component reported a negative correlation for LR, RD and LN. The third component was explained by NFLR3, NFR3 and TFN negatively and positively by PH. The total phenotypic variation of cultivated tomatoes, wild and introgression lines (Zhou *et al.*, 2015a) and wild and semi-domesticated tomatoes (Carrillo and Chávez, 2010) was explained in 78.54 % and 86.25 % from the first three principal components associated with leaf characteristics, plant size, flowering, fruit maturity, and number of fruits. Similar values and associations were present for the already mentioned evaluations of this work.

Genotypes dispersion (Figure 1) allowed separating *S. pimpinellifolium* L. from the rest of the genotypes of *S. lycopersicum* L. Álvarez *et al.* (2001) determined that both species are related. In contrast, the agro-morphological dendrogram (Figure 2) allowed the identification of four groups based on the characters with greater correlation for the three selected components. This dendrogram showed a cophenetic coefficient of 0.92 for the Sokal and Rohlf (1962) test, which indicate that the identified groups allow to determine the grouping similarity among the evaluated genotypes (Odong *et al.*, 2011).

Group I was formed by *S. pimpinellifolium* L., the three remaining (II, III and IV) were integrated by genotypes from *S. lycopersicum* L. In the same way, Marín-Montes *et al.* (2016) identified three native Mexican groups of tomatoes based on their leaf, flower, stem and fruit morphological characters.

Group I was characterized by small plants (1.75 m), early flowering (17 d), and greater number



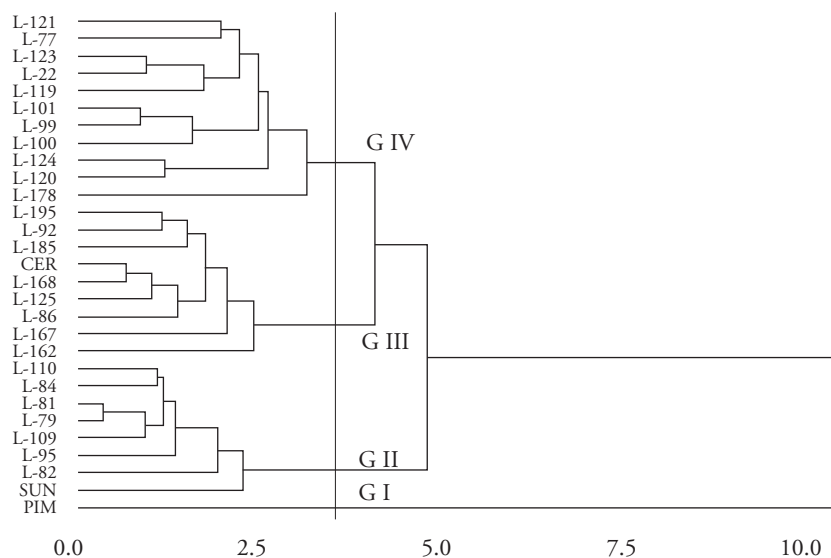
**Figura 1. Distribución de los genotipos con base en tres componentes principales.**

**Figure 1. Genotypes distribution based on three principal components.**

En cambio, el dendrograma agro-morfológico (Figura 2) permitió identificar cuatro grupos a partir de caracteres de mayor correlación para los tres componentes seleccionados. Este dendrograma presentó un coeficiente cofenético de 0.92 para la prueba de Sokal y Rohlf (1962), lo cual indicó que los grupos identificados permiten determinar la similitud de la agrupación entre los genotipos evaluados (Odong *et al.*, 2011).

El Grupo I se formó por *S. pimpinellifolium* L. y los tres restantes (II, III y IV) se integraron por ge-

of leaves (44.92 leaves), long clusters (50.08 cm), greater length between clusters (11.23 cm), 87.5 flowers, 35.41 fruits to the third cluster and 514.33 total fruits. Its mean fruits were round with 1.10 cm polar diameter and two locules. Likewise, Rodríguez *et al.* (2006) reported 1.6 m height plants with round 0.9 cm fruits in inbred lines derived from *S. lycopersicum* L. × *S. pimpinellifolium* L., and Flores-Hernández *et al.* (2017) reported that *S. pimpinellifolium* L. had 14 days to flowering, with round 1.3 cm fruits of polar diameter.



**Figura 2. Dendrograma jerárquico obtenido mediante distancias Euclidianas de nueve caracteres morfológicos de mayor correlación en el análisis de componentes principales.**

**Figure 2. Hierarchical dendrogram obtained by Euclidean distances of nine morphological characters with greatest correlation in the principal components analysis.**



notipos de *S. lycopersicum* L. Así Marín-Montes *et al.* (2016) identificaron tres grupos de jitomates nativos de México con base a caracteres morfológicos de hoja, flores, tallo y fruto.

El grupo I se caracterizó por presentar plantas pequeñas (1.75 m), muy precoces a floración (17 días), con mayor número hojas (44.92 hojas), racimos largos (50.08 cm), mayor longitud entre racimos (11.23 cm), 87.5 flores, 35.41 frutos al tercer racimo y 514.33 frutos totales. Sus frutos fueron redondos con 1.10 cm de diámetro polar y dos lóculos. Asimismo, Rodríguez *et al.* (2006) reportaron plantas de 1.6 m de altura con frutos redondos de 0.9 cm en líneas endogámicas derivadas de *S. lycopersicum* L. × *S. pimpinellifolium* L., y Flores-Hernández *et al.* (2017) encontraron que *S. pimpinellifolium* L. presentó 14 d a floración, con frutos redondos de 1.3 cm de diámetro polar.

El Grupo II presentó plantas tardías a floración (32.6 d), de porte medio (1.91 m), con pocas hojas (28.83 hojas), racimos de longitud media (19.47 cm), 8.03 flores al tercer racimo y 27.41 cm de distancia entre racimos. Las plantas presentaron menor cantidad de frutos al tercer racimo (5.57 frutos) lo que generó menor cantidad de frutos en total (31.95 frutos). Sus frutos fueron de forma saladette y pimiento con 6.39 cm de diámetro polar y 3.67 lóculos. Bonilla-Barrientos *et al.* (2014) determinaron un grupo específico para recolectas con frutos tipo pimiento con características similares a las observadas en este estudio.

El Grupo III presentó plantas altas (2.34 m), 21.33 d a floración, con muchas hojas (38.08 hojas), con 20.12 cm de distancia entre racimos, racimos cortos (23.17), con promedios de 9.76 flores y 7.74 frutos al tercer racimo, esto generó 92.55 frutos en total. Sus frutos fueron de forma cereza y ojo de venado con 2.25 cm de diámetro polar y 2.2 lóculos. Álvarez *et al.* (2009) reportaron valores similares para el grupo III en diámetro polar (1.05 a 2.2 cm), número de lóculos por fruto (2 a 2.8 lóculos) para poblaciones silvestres de *S. lycopersicum* L. (var. *cerasiforme*). Carrillo y Chávez (2010) encontraron variaciones similares en tamaño de fruto (2 cm) y racimo con 7 flores en poblaciones silvestres y semidomesticadas de jitomate cereza, esto sugiere que los genotipos tipo cereza poseen amplia diversidad morfológica debido a su proceso de evolución.

Las plantas del Grupo IV fueron altas (2.67 m), con floración tardía (32.6 d), 34.62 hojas y 30.56 cm

Group II contained late flowering plants (32.6 d), medium sized (1.91 m), with few leaves (28.83 leaves), medium length clusters (19.47 cm), 8.03 flowers to the third cluster and 27.41 cm distance between clusters. The plants presented lower amount of fruits to the third cluster (5.57 fruits) which generated less amount of total fruits (31.95 fruits). Its fruits were saladette and pepper-like with 6.39 cm in polar diameter and 3.67 locules. Bonilla-Barrientos *et al.* (2014) determined a specific group for collections with pepper-like type fruits and characteristics similar to those observed in this study.

Group III encompass tall plants (2.34 m), with 21.33 d to flowering, with many leaves (38.08 leaves), 20.12 cm distance between clusters, short clusters (23.17), with mean 9.76 flowers and 7.74 fruits to the third cluster, this generated 92.55 fruits in total. Its fruits were cherry and deer eye-like with 2.25 cm in their polar diameter and 2.2 locules. Álvarez *et al.* (2009) reported similar values for group III in their polar diameter (1.05 to 2.2 cm), number of locules per fruit (2 to 2.8 locules) in wild populations of *S. lycopersicum* L. (var. *Cerasiforme*). Carrillo and Chávez (2010) found similar variations in fruit size (2 cm) and clusters with seven flowers in wild cherry tomatoes and semidomesticated populations, which suggests that cherry type genotypes have a wide morphological diversity due to their evolution process.

The plants in Group IV were tall (2.67 m), with late flowering (32.6 d), average 34.62 leaves and 30.56 cm of distance between clusters. Its clusters were long (40.66 cm), with 18.68 mean flowers, 10.47 fruits to the third cluster and 81.7 total fruits per plant. Its kidney-like type fruits were 3.14 cm in their polar diameter with 9.56 locules. Vázquez-Ortiz *et al.* (2010) established a group for kidney-like type tomatoes with values from 27 to 34 d to flowering, 28 to 36 fruits per plant, 2.2 to 3.6 cm for polar diameter of fruits and 4 to 7 locules per fruit.

### Variance analysis

The combined ANOVA detected significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between groups for all the evaluated variables (data not shown); on the other hand, in the within groups analysis (data not shown) Group IV exhibit significance for 20 of the evaluated variables, Group III did not present significance for DT. In contrast, Group II did not report significant differences for NFR3, PY, B, RD and SD.

de distancia entre racimos. Sus racimos fueron largos (40.66 cm), con 18.68 flores, 10.47 frutos al tercer racimo y 81.7 frutos en total por planta. Sus frutos tipo riñón fueron de 3.14 cm de diámetro polar y 9.56 lóculos. Vázquez-Ortiz *et al.* (2010) establecieron un grupo para jitomates tipo riñón con valores de 27 a 34 d a floración, 28 a 36 frutos por planta, 2.2 a 3.6 cm para diámetro polar de frutos y 4 a 7 lóculos por fruto.

### Análisis de varianza

El ANDEVA combinado detectó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre grupos para todas las variables evaluadas (datos no mostrados); en cambio, en el análisis dentro de grupos (datos no mostrados) el Grupo IV presentó significancia para 20 variables evaluadas, el Grupo III no presentó significancia para DF; en contraste, el Grupo II no presentó diferencias significativas para NFL3, PT, B, DR y DT.

Para componentes de rendimiento, el Grupo I presentó valores superiores con diferencias significativas en NFL3 (87.5 flores), NRT (13.42 racimos), NFR3 (35.41 frutos) y NTF (514.33 frutos). Esto indicó que LA11904 puede ampliar la base genética del germoplasma en programas de mejoramiento de jitomate que busquen incrementar estos componentes del rendimiento. Rodríguez *et al.* (2006) encontraron que *S. pimpinellifolium* L. modificó el número de flores y frutos, porque las líneas obtenidas se asemejaron al progenitor silvestre.

El Grupo II fue superior y significativo para DP (6.39 cm), DE (5.74 cm), PPF (83.14 g) y PT (2.57 kg). Las accesiones L-110 y L-82 fueron sobresalientes para estos caracteres que podrían incrementar el tamaño de fruto y, a su vez, se podrían modificar mediante hibridación entre genotipos con mayor distancia genética. Esto se demostró al cruzar jitomates nativos y líneas derivadas de variedades comerciales (Gul *et al.*, 2010; Martínez-Vázquez *et al.*, 2016), o bien al emplear solo progenitores nativos (Pinacho-Hernández *et al.*, 2011).

En sólidos solubles totales, el Grupo I podría incrementar la variabilidad de este carácter para mejorar la calidad interna de fruto, porque el uso de *S. pimpinellifolium* como fuente de alelos incrementó de 1.6 a 4 °Brix (Rodríguez *et al.*, 2006; Hernández-Bautista *et al.*, 2014; Parra-Gómez *et al.*, 2016).

For the yield components, Group I reports higher values with significant differences in NFLR3 (87.5 flowers), TRN (13.42 clusters), NFR3 (35.41 fruits) and NTF (514.33 fruits). This indicates that LA11904 can broaden the germplasm genetic base of tomato breeding programs that seek to increase these yield components. Rodríguez *et al.* (2006) found that *S. pimpinellifolium* L. modified the number of flowers and fruits, because the obtained lines resembled the wild progenitor.

Group II was superior and significant for PD (6.39 cm), ED (5.74 cm), AFW (83.14 g) and TY (2.57 kg). L-110 and L-82 accessions were outstanding for these characters that could increase the size of the fruit and, in turn, could be modified by hybridization between genotypes with greater genetic distance. This was demonstrated when crossing native tomatoes and lines derived from commercial varieties (Gul *et al.*, 2010; Martínez-Vázquez *et al.*, 2016), or when using only native parents (Pinacho-Hernández *et al.*, 2011).

Regarding the total soluble solids, Group I could increase this character variability to improve internal fruit quality, because the use of *S. pimpinellifolium* as a quality alleles source increased it from 1.6 to 4 °Brix (Rodríguez *et al.*, 2006; Hernández-Bautista *et al.*, 2014; Parra-Gómez *et al.*, 2016).

LA11904 was the earliest genotype to flower (17 days) and to mature (74.42 d), whereas if the breeder's objective were late plants, Group II had more days to flower (32.66 d) and to mature (91.16 d). Earliness is a characteristic that must be selected with caution, since there is a negative correlation between earliness and fruit size (Martínez-Vázquez *et al.*, 2017).

For SD, the L-95 genotype from Group II had a stem diameter (2.08 cm) superior to the rest of genotypes, so due to its strength conferred by its SD it could be used as rootstock. In this sense, it was reported the usage of native tomatoes as rootstocks, which increased the productivity of commercial tomato varieties by up to 30% (Velasco-Alvarado *et al.*, 2017).

### Molecular characterization

#### Exploratory analyzes of the molecular markers

The 18 molecular markers used were polymorphic and generated 93 alleles with 5.2 mean alleles per marker; the SSR 276 marker had the highest allele number (8 alleles); in contrast, SSR 286 only identified

LA11904 fue el genotipo más precoz para florecer (17 días) y madurar (74.42 d), en cambio si el objetivo del mejorador son plantas tardías, el Grupo II presentó más días para florecer (32.66 d) y madurar (91.16 d). La precocidad es una característica que se debe seleccionar con cautela ya que hay una correlación negativa entre precocidad y tamaño de fruto (Martínez-Vásquez *et al.*, 2017).

Para DT, el genotipo L-95 del Grupo II presentó un diámetro de tallo (2.08 cm) superior al resto de los genotipos, por lo que debido a su vigor conferido por su DT podría emplearse como portainjerto. En este sentido, se ha reportado el uso de jitomates nativos como portainjertos, los cuales aumentaron la productividad de las variedades comerciales de jitomate hasta en 30 % (Velasco-Alvarado *et al.*, 2017).

### Caracterización molecular

#### Análisis exploratorios en marcadores moleculares

Los 18 marcadores moleculares empleados fueron polimórficos y generaron 93 alelos con 5.2 alelos en promedio por marcador, el marcador de mayor número de alelos fue SSR 276 (8 alelos); en contraste, SSR 286 identificó solo 3 alelos. Esto indicó que el jitomate nativo evaluado presentó mayor riqueza alélica; así, Zhou *et al.* (2015a) y Zhou *et al.* (2015b) reportaron 4 y 3.6 alelos por marcador para jitomates cultivados y silvestres.

El valor promedio para PIC fue 0.63, con un intervalo de 0.18 (SSR296) a 0.89 (SSR320), esto indicó que los marcadores usados fueron de valor informativo alto, y hay valores similares para microsatélites en jitomates nativos, silvestres y variedades comerciales, en un rango de 0.35 a 0.62 (Kwon *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2015a; Zhou *et al.*, 2015b; Phan, *et al.*, 2016).

#### Análisis individual

Las poblaciones presentaron 19 alelos en promedio, con un rango de 18 (CER, L-109, L-185, L-124 y L-123) a 23 alelos (L-86). En promedio, HE fue 0.05, donde las CER, L-109, L-185, L-124 y L-123 presentaron de HE igual a 0.0 y L-86 presentó 0.28 para HE. Para HO se observó un promedio de 0.05, con un mínimo de 0.0 (CER, L-109, L-185, L-124 y L-123) y máximo de 0.2778 (L-86); esto sugirió que las poblaciones fueron casi homocigóticas.

three alleles. This indicates that the evaluated native tomatoes had greater allelic richness; thus, Zhou *et al.* (2015a) and Zhou *et al.* (2015b) reported four and 3.6 alleles per marker for both, cultivated and wild tomatoes.

The average PIC value was 0.63 and ranged from 0.18 (SSR296) to 0.89 (SSR320), this indicated that the markers used were of high informative value. There are similar values for microsatellites in native, wild and commercial varieties, which PIC ranged from 0.35 to 0.62 (Kwon *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2015a; Zhou *et al.*, 2015b; Phan *et al.*, 2016).

### Individual analysis

The populations exhibited an average of 19 alleles which ranged from 18 (CER, L-109, L-185, L-124 and L-123) to 23 alleles (L-86). On average, EH was 0.05, where the CER, L-109, L-185, L-124 and L-123 had EH equal to 0.0 and L-86 report 0.28 for EH. HO had an average of 0.05, with a 0.0 minimum (CER, L-109, L-185, L-124 and L-123) and 0.2778 maximum (L-86), which suggested that the assessed populations were almost homozygous.

The amount of PL was 1 *loci* per population, with a minimum of 0.0 PL (CER, L-109, L-185, L-124 and L-123) and a maximum of 5 PL (L-86). The SI presented on average 0.04, its range between 0.0 and 0.1925, which indicated minimum diversity among genotypes; NEI presented 0.03 on average, with a range from 0.0 to 0.14. This indicated that L-86 population had the greatest diversity, whereas CER, L-109, L-185, L-124 and L-123 were the populations with the lowest diversity among individuals from each population.

### Clustering analysis

The RGD varied from 0.06 (L-82 and L84) to 0.99 (PIM and L-109) with mean of 0.60, which was higher than that reported for cultivated and wild tomatoes (Zhou *et al.*, 2015a; Zhou *et al.*, 2015 b). This indicated that the variability was similar to that between wild relatives and cultivated tomato, but higher for the *S. lycopersicum* accessions reported by Tam *et al.* (2005).

The dendrogram generated with the molecular data (Figure 3) allowed identifying nine groups at a threshold of 0.45. Group 1 formed by the genotype LA11904. Group 2 was integrated by the SUN7705

La cantidad de LP fue 1 *loci* por población, con un mínimo de 0.0 LP (CER, L-109, L-185, L-124 y L-123) y máximo de 5 LP (L-86). El IS presentó en promedio 0.04, su rango estuvo entre 0.0 y 0.1925, lo que indicó diversidad mínima entre genotipos; NEI presentó 0.03 en promedio, con un rango de 0.0 a 0.14. Esto indicó que la población con mayor diversidad fue L-86, en cambio CER, L-109, L-185, L-124 y L-123 fueron las poblaciones con menor diversidad entre individuos de cada población.

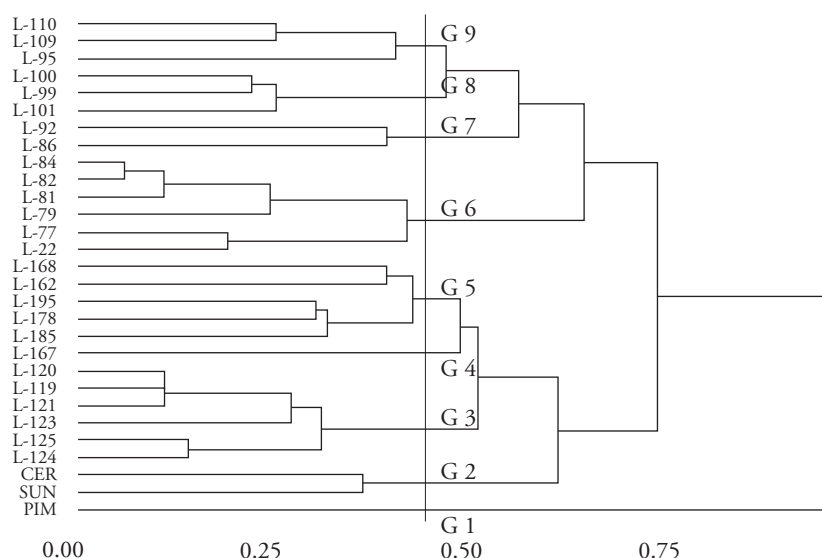
### Análisis de agrupamiento

La DGR varió de 0.06 (L-82 y L84) a 0.99 (PIM y L-109) con un promedio de 0.60, que fue superior al reportado para jitomates cultivados y silvestres (Zhou *et al.*, 2015a; Zhou *et al.*, 2015 b). Esto indicó que la variabilidad fue similar a la distancia entre parientes silvestres y jitomate cultivado, pero fue mayor para las accesiones de *S. lycopersicum* reportadas por Tam *et al.* (2005).

El dendrograma generado con datos moleculares (Figura 3) permitió identificar 9 grupos a una altura de corte de 0.45. El Grupo 1 se formó por el genotipo LA11904. El Grupo 2 integró los testigos SUN7705 y jitomate cereza. El Grupo 3 agrupó seis genotipos originarios de Puebla: L-125, L-124, L-123, L-121, L-120 y L-119, de estos un genotipo presentó frutos tipo cereza y el resto mostró frutos tipo riñón pequeño.

genotype and cherry tomato. Group 3 grouped six genotypes from Puebla: L-125, L-124, L-123, L-121, L-120 and L-119, from these one genotype had cherry-like fruits and the rest small kidney type fruits. Group 4 was formed by the L-167 accession from Veracruz, with a cherry-like fruit shape. Group 5 was formed by L-185, L-195, L-178 and L-168 from Veracruz and L-162 from Oaxaca and presented deer eye type and cherry fruits. Group 6 was integrated by six genotypes, L-22 from Oaxaca and L-77, L-79, L-81, L-82 and L-84 from Puebla; three accessions showed Chinese Creole type fruits, two were large kidney-like type and one pumpkin type. Group 7 was integrated by genotypes L-92, L-86 from Puebla, with cherry-like, and deer-eye fruits. Group 8 was formed by L-101, L-100, L-99 from Oaxaca with kidney-type fruits. Group 9 was integrated by genotypes L-110, L-109, L-95 from Puebla, with squash and square fruit. The described groups had different origins within the groups, which indicated that despite the geographical distance between genotypes they shared the same alleles. Likewise, Zhou *et al.* (2015b) observed this grouping tendency in cultivated and wild tomatoes from America, Europe and Asia.

The group with the widest diversity was 5 because it presents 14 polymorphic loci and 0.58 for SI and 0.36 for NEI. The groups with lower diversity were 1 and 4, because they reported a single *locus*, polymorphic, 0.04 for SI and 0.04 for NEI. Zhou *et al.* (2015b) reported



**Figura 3. Dendrograma obtenido con distancia genética de Rogers con los 93 alelos SSR identificados.**

**Figure 3. Dendrogram obtained with Rogers genetic distance with the 93 identified SSR alleles.**



El Grupo 4 se formó con la accesión L-167 proveniente de Veracruz, con forma de fruto tipo cereza. El Grupo 5 se conformó por L-185, L-195, L-178 y L-168 originarias de Veracruz y L-162 proveniente de Oaxaca, y presentó frutos tipo ojo de venado y cereza. El Grupo 6 integró seis genotipos, L-22 originario de Oaxaca y L-77, L-79, L-81, L-82 y L-84 procedentes de Puebla; tres accesiones mostraron frutos tipo chino criollo, dos fueron tipo riñón grande y una del tipo calabaza. El Grupo 7 integró los genotipos L-92 y L-86, originarios de Puebla, con frutos tipo cereza y ojo de venado. El Grupo 8 se formó por L-101, L-100, L-99 originarias de Oaxaca con frutos tipo riñón. El Grupo 9 integró los genotipos L-110, L-109, L-95 provenientes de Puebla, con fruto tipo calabaza y cuadrado. Los grupos descritos presentaron diferentes orígenes dentro de los grupos, lo que indicó que a pesar de la distancia geográfica entre genotipos compartieron alelos iguales. Así, Zhou *et al.* (2015b) observaron esta tendencia de agrupación en jitomates cultivado y silvestre de América, Europa y Asia.

El grupo con diversidad más amplia fue el 5 porque presentó 14 *loci* polimórficos y 0.58 para IS y 0.36 para NEI. Los grupos con diversidad mínima fueron 1 y 4, porque presentaron un *loci*, polimórfico, 0.04 para IS y 0.04 para NEI. Zhou *et al.* (2015b) reportaron valores superiores, porque evaluaron genotipos de América, lo que generó mayor diversidad.

El coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) presentó un valor promedio de 0.77, con un mínimo de 0.27 (Grupo 7) y máximo de 0.87 (Grupo 5). Esto indicó que el Grupo 8 presentó más poblaciones heterocigóticas en comparación a los grupos restantes, por esto se infirió que la selección favorecería la presencia de individuos homocigotos. Tam *et al.* (2005) reportaron un coeficiente de endogamia similar para *S. lycopersicum*; en cambio, Albrecht *et al.* (2010) reportaron  $F_{IS}$  cercano a cero para *S. lycopersicoides* debido al tipo de polinización característica de la especie.

El índice de fijación ( $F_{ST}$ ) presentó 0.68 en promedio, con un rango de 0.67 (Grupo 7) a 0.94 (Grupo 2), lo que indicó que las poblaciones evaluadas fueron muy diferentes entre sí debido a la autopolinización. Las poblaciones del Grupo 2 fueron muy diferentes entre sí debido a su origen comercial y procesos de mejoramiento al que fueron expuestas. Las poblaciones del grupo 7 fueron uniformes debido a su lugar de origen y manejo. Para parientes silvestres del jitomate con polinización cruzada debida a la autoincompatibilidad,

higher values, because they evaluated genotypes of America, which generated greater diversity.

The inbreeding coefficient ( $F_{IS}$ ) had a mean value of 0.77, with a 0.27 minimum (Group 7) and a 0.87 maximum (Group 5). This indicated that Group 7 presented more heterozygous populations compared to the remaining groups; for this reason, we inferred that the selection would favor the homozygous individual presence. Tam *et al.* (2005) reported a similar inbreeding coefficient for *S. lycopersicum*; in contrast, Albrecht *et al.* (2010) reported  $F_{IS}$  values close to zero for *S. lycopersicoides* due to the type of pollination characteristic of the species.

The fixation index ( $F_{ST}$ ) presented a 0.68 mean value, which ranged from 0.67 (Group 7) to 0.94 (Group 2), which indicated that the evaluated populations were very different from each other due to self-pollination. Populations on Group 2 were very different from each other due to their commercial origin and improvement processes to which they were exposed. Group 7 populations were uniform due to their place of origin and management. For wild tomato relatives with cross-pollination due to self-incompatibility, their  $F_{ST}$  values were near zero, this was reported by Arunyawat *et al.* (2007) and Städler *et al.* (2007).

### Joint evaluation

The coefficient for the Mantel (1967) test was 0.4482, which represent a low correlation for both characterizations. Likewise, a range from 0.12 to 0.66 was reported for morphological characterizations with molecular variables in native, wild and cultivated tomatoes (Mazzucato *et al.*, 2008; Kwon *et al.*, 2009; Yong-Sham *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2015a). Therefore, the information provided by the agromorphological and molecular characterization is different and they explained in a different way the diversity among accessions.

For the cluster analysis, two groups were identified in the dendrogram generated with nine agronomic characters and 93 alleles (Figure 4). Accession LA11904 (*S. pimpinellifolium* L.) formed group A. Group B was integrated by the rest of the genotypes. Joint grouping indicated that *S. pimpinellifolium* L. showed allelic variants different from the native Mexican germplasm. The genotypes of *S. lycopersicum* L. presented similar characteristics of yield, size, shape and internal fruit



se han reportado valores inferiores de  $F_{ST}$  de acuerdo con lo indicado por Arunyawat *et al.* (2007) y Städler *et al.* (2007).

### Evaluación conjunta

El coeficiente para la prueba de Mantel (1967) fue 0.4482, lo que representó correlación baja para ambas caracterizaciones. Asimismo, se reportó una correlación de 0.12 a 0.66 para caracterizaciones morfológicas y moleculares en jitomate nativo, silvestre y cultivado (Mazzucato *et al.*, 2008; Kwon *et al.*, 2009; Yong-Sham *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2015a). Por lo tanto, la información aportada por la caracterización agro-morfológica y molecular es diferente y explicaron de manera diferente la diversidad entre accesiones.

Para el análisis de agrupamiento se identificaron dos grupos en el dendrograma generado con nueve caracteres agronómicos y 93 alelos (Figura 4). La accesión LA11904 (*S. pimpinellifolium* L.) formó el grupo A. El grupo B se integró por el resto de genotipos. La agrupación conjunta indicó que *S. pimpinellifolium* L. mostró variantes alélicas diferentes al germoplasma nativo de México. Los genotipos de *S. lycopersicum* L. presentaron caracteres de rendimiento, tamaño, forma y calidad interna de fruto características fenotípicas y genotípicas similares que no permitieron la diferenciación entre genotipos de *S. lycopersicum*; esto sugirió que son estudios comple-

quality that did not allow the differentiation between *S. lycopersicum* genotypes; this suggests that the evaluations here are complementary studies to analyze genetic diversity among populations. The separation between species was similar to that obtained for different studies, where the authors reported the differentiation between both species, which suggests the existence of novel allelic variants to the germplasm native to Mexico (Álvarez *et al.*, 2001; Nuez *et al.*, 2004).

### CONCLUSIONS

The LA11904 accession stood out for its yield components and earliness. L-110 and L-82 stood out due to the larger size of its fruits, and L-95 due to its larger stem diameter.

The clustering patterns of genetic diversity could allow establishing strategies for the use of the agronomic and morphological variants of native germplasm in tomato breeding programs.

Native Mexican genotypes of tomato present wide allelic variation, with cherry and deer-eye types having the highest number of alleles; these could modify and broaden the genetic base of cultivated tomatoes.

The morphological and molecular evaluations were complementary studies that allowed better explaining the diversity in native tomatoes.

—End of the English version—

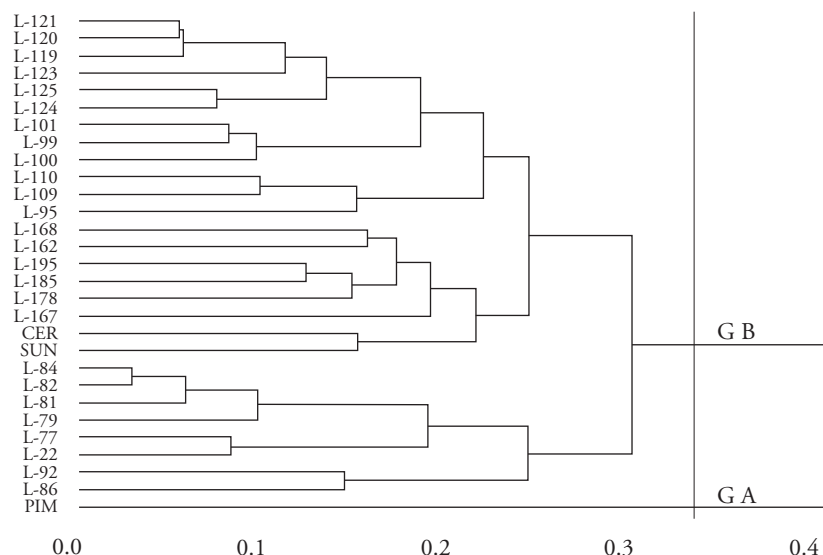


Figura 4. Dendrograma conjunto obtenido con distancia de Gower en nueve caracteres morfo agronómicos y 93 alelos SSR.

Figure 4. Joint dendrogram obtained with Gower distance in nine morphagronomic characters and 93 SSR alleles.

mentarios para analizar la diversidad genética entre poblaciones. La separación entre especies fue similar a la obtenida para diferentes estudios, donde reportaron la diferenciación entre ambas especies, lo que sugiere la existencia de variantes alélicas novedosas al germoplasma nativo de México (Álvarez *et al.*, 2001; Nuez *et al.*, 2004).

## CONCLUSIONES

La accesión LA11904 sobresalió por sus componentes de rendimiento y precocidad. L-110 y L-82 destacaron por el mayor tamaño de sus frutos, y L-95 por su mayor diámetro de tallo.

Los patrones de agrupamiento de la diversidad genética podrían permitir establecer estrategias de uso de las variantes agronómicas y morfológicas del germoplasma nativo en programas de mejoramiento genético de jitomate.

Los genotipos de jitomate nativo de México presentaron amplia variación alélica, siendo los tipos cereza y ojo de venado los de mayor cantidad de alelos, estos podrían modificar y ampliar la base genética del jitomate cultivado.

Las evaluaciones morfológicas y moleculares fueron estudios complementarios que permitieron explicar de manera mejor la diversidad existente en jitomates nativos.

## LITERATURA CITADA

- Álvarez, A. E., C. C. M., van de Wiel, M. J. M., Smulders, and B. Vosman. 2001. Use of microsatellites to evaluate genetic diversity and species relationships in the genus *Lycopersicon*. *Theor. Appl. Genet.* 103: 1283-1292.
- Álvarez-Hernández, J. C., H., Cortés-Madrigal, e I. García-Ruiz. 2009. Exploración y caracterización de poblaciones silvestres de jitomate (*Solanaceae*) en tres regiones de Michoacán, México. *Polibotánica* 28: 139-159.
- Albrecht, E., M., Escobar, and R. T. Chetelat. 2010. Genetic diversity and population structure in the tomato-like nighshades *Solanum lycopersicoides* and *S. sitiens*. *Ann. Bot.* 105: 535-554.
- Arunyawat, U. W., Stephan, and T. Städler. 2007. Using multilocus sequence data to assess population structure, natural selection, and linkage disequilibrium in wild tomatoes. *Mol. Biol. Evol.* 24: 2310-2322.
- Benor, S., M. M., Zhang, Z., Wang, and H. Zhang. 2008. Assessment of genetic variation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) inbred lines using SSR molecular markers. *J. Genet. Genomics* 35: 373-379.
- Bernatzky, R., and S. D. Tanksley. 1986. Methods for detection of single or low copy sequences in tomato on southern blots. *Plant. Mol. Biol. Report* 4: 37-41.
- Blanca, J., J. Cañizares, L. Cordero, L. Pascual, M. J. Diez, and F. Nuez. 2013. Variation revealed by SNP genotyping and morphology provides insight into the origin of the tomato. *PLoS ONE* 7: e48198.
- Bonilla-Barrientos, O., R., Lobato-Ortiz., J. J., García-Zavala, S., Cruz-Izquierdo, D., Reyes-López, E. Hernández-Leal, y A. Hernández-Bautista. 2014. Diversidad agronómica y morfológica de tomates arrifionados y tipo pimiento de uso local en Puebla y Oaxaca, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 37: 129-139.
- Carrillo R., J. C., y J. L. Chávez S. 2010. Caracterización agromorfológica de muestras de tomate de Oaxaca. *Rev. Fitotec. Mex.* 33: 1-6.
- Cervantes-Moreno, R., J. E. Rodríguez-Pérez, C. Carrillo-Fonseca, J. Sahagun-Castellanos, y E. Rodríguez-Gúzman. 2014. Tolerancia de 26 colectas de tomates nativos de México al nematodo *Meloidogyne incognita* (KOFOID Y WHITE) CHITWOOD. *Rev. Chap. Ser. Hort.* 20: 5-18.
- CIMMYT (Centro de Mejoramiento de Maíz y Trigo). 2006. Protocolos de Laboratorio: Laboratorio de Genética Molecular Aplicada del CIMMYT. Tercera edición. CIMMYT (ed). D.F. México. 92 p.
- Charrad M., N., Ghazzali, V., Boiteau, and A., Niknafs. 2014. Nbclust: An R package for determining the relevant number of clusters in a data set. *J. Stat. Software* 61: 1-36.
- Fernie, A. R., Y., Tadmor, and D. Zamir. 2006. Natural genetic variation for improving crop quality. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 9: 196-202.
- Flores-Hernández, L. A., R., Lobato-Ortiz., J. J., García-Zavala, J. D., Molina-Galán, D. M., Sangerman-Jarquín, y M. de J. Velasco-Alvarado. 2017. Parientes silvestres del tomate como fuente de germoplasma para el mejoramiento genético de la especie. *Rev. Fitotec. Mex.* 40: 83-91.
- Gepts, P., and J. Hancock. 2006. The future of plant breeding. *Crop. Sci.* 46: 1630-1643.
- Gower, J. C. 1971. A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics* 27: 857-874.
- Gul, R., H., Ur-Rahman, I., Hussain K., S. M., Ali S., and A. Ghafoor. 2010. Heterosis for flower and fruit in tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Afr. J. Biotechnol* 9: 4144-4151.
- Hair, J. F., J. R., Anderson, R. E., Tatham, R. L., and W. C. Black. 1999. Análisis Multivariante. Quinta edición. Prentice Hall (Ed). Iberia, Madrid. pp: 79-140.
- Hernández-Bautista, A., R., Lobato-Ortiz., S., Cruz-Izquierdo, J. J., García-Zavala, y J. L. Chávez-Servia. 2014. Variación fenotípica, heterosis y heredabilidad de una cruz interespecífica de jitomate. *Interciencia* 39: 327-332.
- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). 1996. Descriptores para el Tomate *Lycopersicon* spp. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (ed). Roma, Italia. 44 p.
- Jolliffe, I. T. 2002. Principal Component Analysis. Segunda edición. Springer-Verlag (ed). New York. 478 p.
- Kaufman, L., and P. J. Rousseeuw. 1990. Finding groups in data: an introduction to cluster analysis. John Wiley & Sons Inc (ed). Hoboken, New Jersey. 335 p.
- Kaiser, H. 1974. An index of factor simplicity. *Psychometrika* 39: 31-36.
- Kwon, Y. S., S. G., Park, and S. I. Yi. 2009. Assessment of genetic variation among commercial tomato (*Solanum lycopersicum* L.)

- varieties using SSR markers and morphological characteristics. *Genes & Genomics* 31: 1-10.
- Lobato O., R., E. Rodríguez G., J. C. Carrillo R., J. L. Chávez S., P. Sánchez P., y A. Aguilar M. 2012. Exploración, colecta y conservación de recursos genéticos de jitomate: avances en la Red de Jitomate. Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. 54 p.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209-220.
- Marín-Montes, I. M., J. E. Rodríguez-Pérez, J. Sahagún-Castellanos, L. Hernández-Ibáñez, and A. M. Velasco-García. 2016. Morphological and molecular variation in 55 native tomato collections from Mexico. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 22: 117-131.
- Martínez-Vázquez, E. A., A. Hernández-Bautista, R. Lobato-Ortiz., J. J. García-Zavala, y D. Reyes-López. 2017. Exploring the breeding potential of mexican tomato landraces. *Scientia Horticulturae* 220: 317-325.
- Martínez-Vázquez, E. A., R. Lobato-Ortiz., J. J. García-Zavala, y D. Reyes-López. 2016. Heterosis de cruas entre líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) nativo mexicano tipo pimiento y líneas de tipo saladette. *Rev. Fitotec. Mex.* 39: 67-77.
- Mazzucato, A., R., Papa, E., Bitocchi, P. Mosconi, L. Nanni, V., Negri, M. E., Picarella, F., Siligato, G. P., Soressi, B., Tiranti, and F. Veronesi. 2008. Genetic diversity, structure and marker-trait associations in a collection of Italian tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Theor. Appl. Genet.* 116: 657-669.
- Moose, S. P., and R. H. Mumm. 2008. Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. *Plant. Physiol* 147: 969-977.
- Nuez, F., J. Phohens, and J. M. Blanca. 2004. Relationships, origin, and diversity of Galapagos tomatoes: implications for the conservation of natural populations. *Am. J. Bot.* 9: 86-99.
- Odong, T. L., J. van Heerwaarden, J. Jansen, T. J. L. van Hintum, and F. A. van Eeuwijk. Determination of genetic structure of germplasm collections: are traditional hierarchical clustering methods appropriate for molecular marker data? *Theor. Appl. Genet.* 123: 195-205.
- Parra-Gómez, M. A., R. Lobato-Ortiz., J. J. García-Zavala, D. Reyes-López, y M. J. Velasco-Alvarado. 2016. Evaluación de líneas de una cruz de interespecífica de tomate. *Rev. Fitotec. Mex.* 39: 59-65.
- Phan, N. T., K. Min-Kyung, and S. Sung-Chur. 2016. Genetic variations of F<sub>1</sub> tomato cultivars revealed by a core set of SSR and InDel markers. *Scientia Horticulturae* 212: 155-161.
- Pinacho-Hernández, A., E. José-José, J. C. Carrillo-Rodríguez, Y. Villegas-Aparicio, J. L. Chávez-Servia y A. M. Vera-Guzmán. 2011. Heterosis interpoblacional de híbridos F<sub>2</sub> de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) nativo de Oaxaca, México. *J. Int. Am. Soc. Trop. Agric. Hortic.* 55: 74-77.
- Rodríguez, R. G., G. R. Pratta, R. Zorzoli, and A. L. Picardi. 2006. Evaluation of plant and fruit traits in recombinant inbred lines of tomato obtained from a cross between *Lycopersicon esculentum* and *L. pimpinellifolium*. *Ciencia Inves. Agr.* 33: 111-118.
- SAS Institute (2002) User's Guide of SAS (Statistical Analysis System). SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA. 550 p.
- Städler, T., U., Arunyawat, and W. Stephan. 2007. Population genetics of speciation in two closely related wild tomatoes (*Solanum* Section *Lycopersicon*). *Genetics* 178: 339-350.
- Steiner, A. A. (1984) The universal nutrient solution. In: Proceedings of the 6th International Congress on Soilless Culture. 29 April - 5 May. International Society for Soilless Culture, ISOSC. Wageningen, The Netherlands. pp: 633-650.
- Sokal, R., and F. Rohlf. 1962. The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon* 11: 33-40.
- Tam, S. M., C. Mhiri, A. V. Marcel K., S. R. Pearce, and M-A. Grandbastien. 2005. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. *Theor. Appl. Genet.* 110: 819-831.
- Tibshirani, R., G. Walther, and T. Hastie. 2001. Estimating the number of clusters in a data set via the gap statistic. *J. R. Statist. Soc. B.* 63: 411-423.
- Varshney, R.K., D. A. Hoisington, S. N. Nayak, and A. Graner. 2009. Molecular plant breeding: methodology and achievements. In: D. J., Langridge P., and J. P. Gustaf (eds). *Plant Genomics Somers.* Humana Press (Ed) New York. pp: 283-304.
- Vásquez-Ortiz, R., J. C. Carrillo-Rodríguez, y P. Ramírez-Vallejo. 2010. Evaluación morfo-agronómica de una muestra del jitomate nativo del centro y sureste de México. *Naturaleza y Desarrollo* 8: 49-64.
- Vela-Hinojosa, C., H. B., Escalona-Buendía, J.A., Mendoza-Espinoza, F., Díaz de León-Sánchez, R., Lobato-Ortiz, J.E., Rodríguez-Pérez, M., Ramírez-Aguilar, F., Pérez-Díaz, J.M., Villa-Hernández and L. Pérez-Flores. 2018. Chemical and sensory analysis of native genotypes and experimental lines of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Fruits* 73: 60-71.
- Velasco-Alvarado, M. de J., R. Lobato-Ortiz, J. J. García-Zavala, R. Castro-Brindis, S. Cruz-Izquierdo, T. Corona-Torres, and M. K. Moedano-Mariano. 2017. Mexican native tomatoes as rootstocks to increase fruit yield. *Chilean JAR* 77: 187-193.
- Weir, B. S. 1996. Genetic Data Analysis: Methods for Discrete Population Genetics Data. Sinauer Associates, Inc., Sunderland (Ed.) Sunderland, Massachusetts. 445 p.
- Yong-Sham, K., P., Sun-Gi, and Y. Seung-In. 2009. Assessment of Genetic Variation among commercial tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) varieties using SSR Markers and morphological characteristics. *Genes and Genomics.* 31: 1-10.
- Zhou, R., Z., and F. L. Jiang. 2015a. Genetic diversity of cultivated and wild tomatoes revealed by morphological traits and SSR markers. *GMR* 14: 13868-13879.
- Zhou, R. Z. Wu, F. L. Jiang, and M. Liang. 2015b. Comparasion of gSSR and EST-SSR markers for analyzing genetic variability among tomato cultivars (*Solanum lycopersicum* L.). *GMR* 14: 13184-13194.