

## Caracterización molecular de variedades de referencia de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) mediante marcadores ISSR

Margarita Gisela Peña-Ortega\*; Aureliano Peña-Lomelí;  
Karen Carnstensen-Benavides; Natanael Magaña-Lira; Juan Martínez-Solís

Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia,  
km 38.5 carretera México-Texcoco, Chapingo, Texcoco, Estado de México. C. P. 56230

### Historial del artículo:

Recibido: 28 de julio de 2021

Aceptado: 1 de septiembre de 2021

### \*Autor de correspondencia:

mgise310@gmail.com

### Resumen

El tomate de cáscara es una hortaliza importante que ha sido sometida a un amplio rango de domesticación en la República Mexicana, por lo que existe una amplia variabilidad genética disponible. Como consecuencia, resulta conveniente caracterizar molecularmente las variedades cultivadas comúnmente que se usan como referencias para clasificar nuevas recolectas o para el registro de nuevas variedades mejoradas. Por lo que se obtuvieron las huellas genómicas de 12 variedades de tomate de cáscara pertenecientes a ocho distintas razas usando marcadores del tipo ISSR (Secuencias Intercaladas entre Repeticiones Simples). Veintidós marcadores ISSR produjeron un total de 208 bandas, 172 de las cuales fueron polimórficas (lo que representó un porcentaje de polimorfismo de 83 %). Se construyó un cuadro con las huellas genómicas obtenidas. Seis marcadores fueron absolutamente necesarios para el análisis de los materiales evaluados. Entre ellos, UBC-835, UBC-873 y UBC-823 mostraron el mayor poder discriminatorio, por lo que resultarán de utilidad en futuros estudios genéticos sobre el mejoramiento genético de este cultivo. Adicionalmente, se usaron las distancias de Jaccard entre pares de razas para elaborar un dendrograma. Los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron que los marcadores moleculares ISSR pueden ser utilizados para la identificación efectiva de variedades de tomate de cáscara.

► **Palabras clave:** *Physalis ixocarpa* Brot., huellas genómicas por ISSR, caracterización de germoplasma.

### Introducción

El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) es una especie con una gran variabilidad genética. Más de 70 distintas especies diferentes se han reportado dentro del género *Physalis*, y al menos ocho diferentes razas de *Physalis ixocarpa* en particular (Vargas-Ponce, O., Pérez-Alvarez, L. F., Zamora-Tavares, P., & Rodríguez, A., 2011). Las Solanáceas se cultivan en todos los estados de la República Mexicana y la producción de frutos se dedica tanto a los mercados nacionales como internacionales. Ocupa el quinto lugar entre los cultivos hortícolas y se siembra en 43 500 ha. Cerca de 700 miles de toneladas se producen anualmente, con un rendimiento promedio de 14 t·ha<sup>-1</sup>, sin embargo, tiene un potencial de 40 t·ha<sup>-1</sup> (FAO, 2014).

Los frutos son redondos, acuosos y contienen semillas encerradas en un cáliz; se presentan en una gran variedad de colores, desde el verde y el amarillo hasta el púrpura oscuro. Son un poco ácidos, ligeramente dulces, aterrados, con un toque de cítricos y son el principal ingrediente para elaborar platillos mexicanos tradicionales como salsa verde, ingredientes en varios guisos, sopas, conservas, bebidas, pies, mermeladas y otras recetas. La infusión del cáliz tiene actividad antibacterial contra infecciones respiratorias causadas por *Staphylococcus*. El jugo del fruto se utiliza para el lavado de los ojos, para controlar problemas gastrointestinales y enfermedades respiratorias (Sharma, N., Bano, A., Dhaliwal, H. S., & Sharma, V., 2015). Tiene potencial como una droga anticancerígena ya que el compuesto ixocarpona A aislado del jugo ha demostrado tener actividades antiproliferativas.

ferativas y actividad apoteótica contra células cancerígenas de colon (Choi et al., 2006).

Se ha demostrado que los frutos de tomate de cáscara son una fuente segura de antioxidantes. Los frutos contienen aproximadamente 93.3 % de agua, así como fibra cruda, carbohidratos digeribles, caroteno, flavonoides, vitaminas como A, E, K, niacina y ácido ascórbico, y minerales como calcio, hierro y fósforo (USDA, 2015)

Se ha encontrado que los frutos del tomate de cáscara poseen una amplia diversidad genética, la cual se ha clasificado en ocho razas: 'Silvestre', 'Milpero', 'Arandas', 'Tamazula', 'Manzano', 'Rendidora', 'Salamanca' y 'Puebla', distribuidas a todo lo largo del país desde los ocho hasta 3 350 metros de altitud. Las razas más importantes desde el punto de vista comercial son 'Rendidora', 'Puebla', 'Tamazula' y 'Salamanca'; sin embargo, no hay variedades mejoradas pertenecientes a esta última raza (Santiaguillo et al., 2012).

El tomate de cáscara un cultivo alógamo obligado, debido a su autoincompatibilidad gametofítica (Escobar-Guzmán, R. E., Hernández-Godínez, F., Martínez de la V., O., & Ochoa-Alejo, N., 2009), controlada por dos genes con múltiples alelos; por lo que sus poblaciones son heterogéneas heterocigóticas, altamente variables y difíciles de clasificar. Adicionalmente la presencia de poblaciones intermedias en diferentes grados de evolución (silvestre, tolerada, fomentada, domesticada y cultivada (Ponce et al., 2011), también dificultan la clasificación. Por lo que la Unión Internacional para la Protección de Nuevas Variedades de Plantas (UPOV, 2007) ha propuesto el uso de doce variedades de referencia para la caracterización morfológica de los materiales de tomate de cáscara. Actualmente, no es obligatorio que los obtentores de variedades envíen las huellas de ADN de las variedades de referencia como un parámetro extra para comparar los perfiles moleculares de las nuevas variedades de tomate de cáscara desarrolladas. Las secuencias simples repetidas (ISSR) han demostrado ser marcadores útiles para obtener las huellas genómicas del tomate de cáscara (Vargas-Ponce et al., 2011).

## Materiales y Métodos

**Material vegetal.** Doce variedades pertenecientes a siete diferentes razas se utilizaron en este estudio (Cuadro 1). La producción de plántulas se realizó bajo condiciones de laboratorio; 100 semillas de cada accesión se sembraron en cajas Petri y se mantuvieron en cámaras de germinación a 28 °C por cinco días.

**Extracción de ADN.** Se usó el protocolo de De la Cruz, M., Ramírez, F., y Hernández, H. (1997); 0.3 g de tejido vegetal fresco se pulverizó con nitrógeno líquido y luego se transfirió a tubos plásticos de 1.5 mL precalentados a 65 °C usando un termoblock conteniendo 700 µL de amortiguador de extracción (Tris-HCl 100 mM, EDTA-Na<sub>2</sub> 50 mM, NaCl 500 mM, 2-mercaptoetanol 10 mM, SDS 1.3 %,

pH 8.0). Los tubos se agitaron por homogeneización y se recalentaron a 65 °C por diez minutos. 200 µL de acetato de potasio 5M se adicionaron a cada tubo, se enfriaron en hielo de 30 a 60 minutos y luego se centrifugaron por 20 minutos a 12 000 xg. El sobrenadante se transfirió a nuevos tubos plásticos conteniendo 600 µL de isopropanol preenfriado y se mantuvieron a -20 °C por 60 minutos para precipitar el ADN. Después los tubos se centrifugaron por cinco minutos a 10 000 x g y se decantaron; la pastilla de ADN se reprecipitó con 700 µL de solución y se dejaron a 4 °C durante toda la noche. Posteriormente se adicionaron 4 µL de ARNasa a cada tubo y se incubaron a 37 °C por una hora. El ADN se reprecipitó usando 75 µL de acetato de sodio y 500 µL de isopropanol frío por 2 horas. Luego los tubos fueron centrifugados por 5 minutos a 10 000 xg se eliminó el supernadante y la pastilla de ADN se lavó con etanol al 70 %. Los tubos fueron centrifugados por cinco minutos a 8 000 x g, se descartó el sobrenadante y la pastilla de ADN se secó a temperatura ambiente. Finalmente, esta se disolvió con 50 µL de TE y se almacenó en refrigeración a 4 °C. Se realizaron seis repeticiones por accesión por lo que se obtuvieron un total de 72 extracciones.

**Cuantificación y evaluación de la calidad del ADN.** La concentración del ADN de las distintas muestras se determinó mediante un NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific, Wilmington, USA) y se realizaron diluciones con el objetivo de tener una concentración uniforme de 10 ng · µL<sup>-1</sup>. Luego las diez repeticiones por accesión se mezclaron para obtener una muestra por genotipo. La calidad del ADN se cuantificó corriendo un gel de agarosa al 8 % usando 100 mL de TAE 1X amortiguador (Tris base 40 mM, pH 7.8; acetato de sodio 20 mM y EDTA 2 mM, pH 8.0). Sobre una cinta de Parafilm se mezclaron 2 µL de buffer de carga (0.2 % de bromofenol, 0.2 % de xilenolol, 25 % de glicerol, 5 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl, pH 8.0) con 10 µL de cada muestra, mientras que en ambos extremos se cargaron 3 µL Kb de escalera molecular. La electroforesis se realizó a 90 volts por 1.5 horas. Después se removió el gel y se tiñó con una solución de bromuro de etidio (0.6 µg·µL<sup>-1</sup> en TAE 1 X) por 20 minutos. Subsecuentemente el gel secó y se colocó en un transiluminador de UV DigiDoc-It ® Imagen System para ser fotografiado usando una cámara Kodak EDAS 290.

**Perfiles moleculares de ISSR.** Un total de 66 iniciadores Sigma® se ensayaron originalmente para evaluar su habilidad de elaborar productos de amplificación claros y reproducibles. Entre ellos se seleccionaron 22 de ellos. El protocolo de PCR fue el siguiente: 2.5 µL de ADN (10 ngµL<sup>-1</sup>) se colocaron en tubos de plástico de 1.5 mL conteniendo 22.5 µL de mezcla de reacción integrada por amortiguador para PCR (2.5 µL 10X), Taq DNA polimerasa (0.3 µL, Invitrogen®), DNTP's (10 µL 500 µM), MgCl<sub>2</sub> (3 µL 50 mM), iniciador (1.5 µL 10 ng/µL) y agua (5.2 µL) para completar un volumen total de 25 µL. Los tubos fueron incubados en un termociclador Techne TC-412 usando el siguiente programa: un ciclo de pre-desnaturalización de µL) minutos a 93 °C, 40 ciclos de desnatu-

**Cuadro 1. Variedades de referencia para la descripción varietal de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) establecidas por la UPOV (2007).**

Raza	Variedad	Raza	Variedad
Milpero	Milpero Tetela	Arandas	Morado R
Manzano	Manzano Tepetlixpa	Puebla	Puebla SM3
	Yema de Huevo		Tecoautla 04
Tamazula	Tamazula SM3	Rendidora	Rendidora
Salamanca	Salamanca		CHF1 Chapingo
	Potrero	Hybrid (Rendidora x Puebla)	Diamante

ralización (un minuto a 93 °C cada uno), alineamiento (un minuto a las diferentes temperaturas para cada iniciador), extensión (un minuto a 72 °C) y un ciclo final de extensión a 72 °C. Los productos de amplificación se separaron por electroforesis en genes de agarosa al 2 % a 200 volts por 2 horas, luego fueron teñidos con bromuro de etidio por 20 minutos y revelados dentro del transiluminador de UV y fotografiados usando la cámara Kodak EDAS 290.

**Análisis estadístico.** Las similitudes y diferencias genéticas entre pares de accesiones fueron calculadas a partir de los patrones de bando colocando el valor de 0 a la ausencia y el de 1 a la presencia de cada banda. Los productos de amplificación fueron registrados para cada iniciador y un número consecutivo fue asignado de acuerdo con su distancia de migración en el gel. El registro de los patrones ISSR obtenidos para cada uno de los 22 iniciadores seleccionados para cada una de las 12 accesiones crearon la matriz básica de datos (MDD).

Para evaluar el poder discriminatorio de los iniciadores probados, se obtuvo un análisis descriptivo de los productos amplificados, donde variables cuantitativas tales como número de bandas amplificadas, proporción de mono y polimórficos loci, y contenido de información polimórfica por iniciador con el paquete estadístico InfoGen® ver. 2011, Universidad de Córdoba, Argentina). Debido que a distancia genética puede ser usada para comparar las similitudes entre las diferentes razas, fueron construidos diferentes grupos bajo el criterio de la varianza mínima de Ward usando la distancia de Jaccard (1-S) para construir un dendrograma. La distancia de corte se estimó con base en el criterio cúbico de agrupamiento ® y la pseudo estadística T<sup>2</sup> de Hotelling's (Johnson, 2000), usando PROC CLUSTER y PROC TREE de SAS® Ver 9.0.

## Resultados y discusión

### Análisis de ISSR

El análisis de los productos de amplificación (Cuadro 2) muestra la secuencia 5'-3' y las temperaturas de alineamiento de los 22 iniciadores probados. Solo 36 de un total de 208 bandas amplificadas fueron monomórficas, lo cual

representó un 83 por ciento de polimorfismo. El número de bandas por iniciador osciló entre 5 a 16. Todos los iniciadores produjeron perfiles únicos para cada variedad, confirmando el valor de los ISSR en la discriminación de las variedades de tomate de cáscara. Estos resultados están con concordancia con los obtenidos por Vargas-Ponce et al. (2011) quienes mediante el uso de 6 iniciadores en 8 especies del género *Physalis* obtuvieron 101 bandas que les permitieron obtener perfiles de ADN para distinguir sin lugar a duda entre especies.

Aun cuando los iniciadores PI01 y ISSR05 mostraron los más altos porcentajes de amplificación a través de todas las 12 accesiones (30.4 y 26.7 %, respectivamente) fue el iniciador UBC835 el que mostró el mayor contenido de información polimórfica (PIC=0.27). Adicionalmente, este exhibió una baja probabilidad para que dos individuos compartieran el mismo alelo por azar (PSSA), por lo que tuvo un alto poder discriminatorio entre variedades. Este comportamiento también se observó para los iniciadores UBVC873 y UBC823, por lo que serían los más recomendables para ser utilizados en futuros estudios de caracterización molecular de tomate de cáscara para distinguir adecuadamente entre variedades. Valores bajos de PSSA también se detectaron para los iniciadores ISSR01, ISSR02 e ISSR04; por lo que sería recomendable el uso de al menos estos seis iniciadores para obtener perfiles confiables de ADN para este cultivo (Cuadro 3).

**Relación entre razas.** Las distancias genéticas entre pares de razas se estimaron usando el coeficiente de similitud de Jaccard transformado en distancia genética como 1-S. Posteriormente un análisis de agrupamiento fue conducido usando el criterio de varianza mínima de Ward. Para asegurar que el agrupamiento obtenido fuera robusto se realizaron 1 0000 ciclos de remuestreo (bootstrapping) y los resultados obtenidos se representaron en un dendrograma jerárquico (Figura 1). El sitio de corte (r=0.60) se estimó usando el criterio cúbico de agrupamiento y la pseudoestadística T<sup>2</sup> de Hotelling. El sitio de corte dividió a las razas en cuatro grupos. Las razas genéticamente más distantes fueron 'Puebla' y 'Tamazula' con una distancia de 0.86; mientras que las razas más relacionadas fueron 'Rendidora' y 'Manzano' (d= 0.44).

**Cuadro 2. Secuencia 5'-3' de iniciadores, temperatura de alineamiento (TA), Número de bandas polimórficas (BP), bandas monomórficas (BM), bandas totales (BT), proporción de loci polimórficos (PPL), contenido de información polimórfica (PIC), error estándar (EE), porcentaje de amplificación (PA), y probabilidad de dos individuos compartiendo por el mismo alelo (PCAA) de los perfiles moleculares de las variedades de referencia del tomate de cáscara.**

Nombre	(5' - 3') Secuencia	TA	BP	BM	BT	PPL(95)	PIC	EE	PA	PCAA
ISSR01	(CA) <sub>8</sub> AAGG	62	15	1	16	0.94	0.19	0.01	13.19	4.2E-16
ISSR02	(CA) <sub>8</sub> AAGCT	62	16	0	16	1.00	0.18	0.01	12.08	8.7E-16
ISSR03	(GA) <sub>8</sub> CTC	58	8	0	8	1.00	0.18	0.01	12.50	3.6E-13
ISSR04	(AG) <sub>8</sub> CTC	58	4	4	8	0.50	0.18	0.01	12.04	3.5E-16
ISSR05	(AG) <sub>8</sub> CTA	56	7	3	10	0.70	0.25	0.01	26.67	2.2E-12
ISSR06	(AG) <sub>8</sub> CTG	58	11	2	13	0.85	0.22	0.01	19.79	8.9E-12
ISSR07	(AG) <sub>8</sub> CTG	58	7	0	7	1.00	0.20	0.01	14.68	3.1E-13
ISSR08	(AC) <sub>8</sub> CTT	56	8	1	9	0.89	0.20	0.01	14.47	2.2E-15
ISSR10	(GA) <sub>8</sub> T	50	7	2	9	0.78	0.19	0.01	13.41	2.5E-13
UBC811	(GA) <sub>8</sub> C	52	7	3	10	0.70	0.20	0.01	17.59	4.5E-10
UBC822	(TC) <sub>8</sub> A	50	10	0	10	1.00	0.19	0.01	12.88	3.9E-15
UBC823	(TC) <sub>8</sub> C	52	3	1	4	0.75	0.20	0.01	13.73	9.3E-16
UBC835	(AG) <sub>8</sub> CTC	54	8	3	11	0.73	0.27	0.01	24.17	4.0E-16
UBC836	(AG) <sub>8</sub> CTA	52	6	2	8	0.75	0.21	0.01	15.97	3.0E-14
UBC841	(GA) <sub>8</sub> CTC	58	13	0	13	1.00	0.21	0.01	15.48	3.7E-15
UBC844	(CT) <sub>8</sub> AC	56	8	0	8	1.00	0.18	0.01	12.15	1.3E-13
UBC848	(CA) <sub>8</sub> AGG	56	1	4	5	0.20	0.21	0.01	15.53	1.5E-14
UBC873	(GACA) <sub>4</sub>	48	8	0	8	1.00	0.22	0.01	17.67	8.9E-16
PI01	(CA) <sub>6</sub> AGCT	48	5	2	7	0.71	0.24	0.02	30.36	1.2E-10
PI02	(CA) <sub>6</sub> AGG	48	3	4	7	0.43	0.26	0.02	23.91	2.0E-14
PI03	AGCT(GACA) <sub>3</sub>	48	6	4	10	0.60	0.23	0.02	20.83	2.0E-12
PI04	(CT) <sub>8</sub> AGC	58	11	0	11	1.00	0.16	0.01	10.26	1.5E-15
Total			172	36	208	0.83			16.40	1.5E-295

Los resultados obtenidos parecen reflejar la importancia del hábito de crecimiento para separar las razas evaluadas. Estos resultados están de acuerdo con los encontrados previamente para otros cultivos, tal como frijol (Gill L., H. R., Rosales C., R., Hernández D., S., & Mayek P., N., 2014) y chile (Tilahun, S., Paramaguru, P., & Hanna, B. J. R., 2013), en los cuales la caracterización morfológica estuvo fuertemente influenciada por el hábito de crecimiento. Por lo que el Grupo I estuvo integrado por las razas 'Rendidora' y 'Manzano', ambas de hábito de crecimiento semi-erecto, el Grupo II por 'Puebla' y 'Salamanca', de hábito erecto, el grupo III por 'Tamazula' de hábito erecto y el Grupo IV por 'Arandas' y 'Milpero' ambas de hábito postrado.

Las razas reunidas en el Grupo I también tienen en común que ambas producen frutos grandes, con cálices fuertes firmemente adheridos a ellos cubriendo completamente los frutos, adicionalmente los frutos tienen una firmeza intermedia, con un número intermedio de semillas por

fruto de tamaño mediano. Sus frutos adquieren su madurez comercial rápidamente y tienen una corta vida de anaquel.

Por el contrario, en el Grupo II las razas tienen en común la producción de frutos de gran firmeza con una madurez fisiológica intermedia a tardía y la producción de un gran número de semillas por fruto. Las razas dentro del Grupo IV producen frutos redondos pequeños con una ligera cavidad peduncular y cálices medianamente adheridos a ellos. Los frutos adquieren su madurez fisiológica en un tiempo intermedio en comparación con otras razas, pero mantienen buenos estándares comerciales a través de periodos más largos de almacenamiento.

El Grupo III estuvo integrado exclusivamente por la raza Tamazula. Aun cuando la variedad evaluada pertenece a esta raza particular ('Tamazula 03') tiene también hábito erecto, sin embargo, probablemente no se unificó en el

Cuadro 3. Tamaño de los alelos portados por doce variedades de referencia de tomate de cáscara

Iniciador	PS <sup>†</sup>	P	DM	ML	MR	MZ	RN	CH	YH	SL	TC	TA
PI01	1772	2656	2656	2656	2656	2656	2656	2656	2656	2656	1719	1719
	1099	1719	1678	2189	1678	2243	1678	1678	2298	2243	1061	1113
	913	1287	1086	1719	896	1719	896	1113	1678	1719	874	896
	738	1086	896	1287		1086		1086	1086	1086		738
	458	896		1086		896			896	896		
				896								
PI02	1359	1683	1644	1644	1683	1890	1847	1847	1644	1606	1606	1644
	1029	1334	1334	1334	1365	1683	1644	1644	1365	1303	1303	1303
	843	1215	1187	1215	1187	1334	1334	1334	986	1187	986	986
	710	1009	986	1009	1009	1215	1009	1187	837	986	818	799
	597	818	818	837	818	1009	837	1009	695	781	679	679
	537	728	695	712	712	799	695	818		712		
	452					695		712				
338												
PI03	1099	1665	1665	2123	1588	2123	1626	2061	1588	1626	1588	2123
	866	1410	1061	1965	1036	1874	1410	1588	1410	1345	965	1626
	673	1061	661	1626	661	1588	1061	1410	1036	818	661	1377
	597	661		1410		1223	818	1087	818	677		1036
	509			780		988	677	661	677			661
			661		661							
PI04	1099	1898	2123	2844	1658	3461	3664	2477	2053	2102	2102	1586
	729	705	1814	2600	1385	2659	2719	1662	1513		1742	1254
	516		1550	2076	1057	2221	2172	1197	1284		1411	969
			1324	1585	945	2030	1855	925	1040		1090	682
			705	1385	674	1515	1295	651	903		803	145
				690		1266	789	484			138	
ISSR01	978	1105	1185	1924	1080	1880	1880	1837	1754	1754	1837	1795
	400	877	1105	1675	800	1637	1675	1675	1212	1185	1637	1299
	340	782	940	1563	680	1105	1425	1185	1055	1055	1330	1158
		540	838	1080	553	857	1158	1055	665	877	1158	1055
		429	729	940	391	620	1055	838	340	592	1055	857
			566	782		391	819	492		528	696	696
			481				680	382		391	566	553
		400				391				373	382	
ISSR02		1392	707	1425	1757	3817	1799	2349	1493	2897	1493	1717
		1155	615	1210	1425	1458	1564	1493	1298	1929	1155	1564
		1028	510	1102	1077	1182	1052	1128	1182	1528	958	1210
		833		1004	560	1077	853	691	1052	1238	833	
		560		833	465	741	724	573	936	1128	724	
			587		587	587		777	853	630		
								547				

<sup>†</sup>P=Potrero, PS=Puebla SM3, RN=Rendidora, S=Salamanca, DM=Diamante, MZ=Manzano Tepetlixpa, MR=Morado R, YH=Yema de Huevo, CH=CHF1 Chapingo, ML=Milpero Tetela, TC=Tecoautla 04, TA=Tamazula SM3.

**Cuadro 3. Tamaño de los alelos portados por doce variedades de referencia de tomate de cáscara. (cont.)**

Iniciador	PS†	P	DM	ML	MR	MZ	RN	CH	YH	SL	TC	TA
ISSR03	1144	1212	2177	1212	1212	1304	2124	1438	1510	1212	1369	1336
	889	904	1473	950	927	1183	1547	1183	1242	997	1127	1154
	700	569	1183	744	841	950	1212	904	973	861	820	950
	613		841	555	744	820	973	542	781	709	569	762
	523		709		569	555	861	457	659	555		569
	452		569		480	424	692		529	468		468
	376		457				542		468			
							468					
ISSR04	1359	1791	1881	1835	1438	1927	1975	1975	1975	1975	2073	2120
	1114	1404	1404	1438	1155	1510	1474	1548	1548	1586	1586	1625
	963	1183	1155	1155	862	1183	1213	1243	1273	1273	1305	1337
	821	974	998	998	727	905	883	1073	1073	950	927	974
	700	841	821	862	628	745	763	905	883	821	801	628
	530	763	745	542	556	542	556	782	745	583	598	
		529	542					569	598			
ISSR05	1183	2498	2498	2498	2498	2498	2498	2498	2498	2591	2591	2498
	950	1472	1472	1437	1508	1437	1472	1508	1472	1508	1472	2128
	628	1099	974	974	1183	998	998	1272	998	1303	1154	1472
		974	782	821	998	821	821	998	821	1154	974	1154
		763	644	644	801	660	660	821	660	998	821	998
		644		517	644		505	660		660	644	821
								517				660
ISSR06	1893	2268	2351	2351	2268	2351	2351	2268	1697	2187	2268	2351
	1594	1697	1697	1697	1697	1697	1637	1637	1270	1637	1697	1637
	1433	1270	1270	1270	1317	1225	1366	1317	793	1270	1270	1225
	1029	1022	1099	1022	986	1022	765	1022	474	765	1099	950
	889	917	884	765	765	765	483	765	433	513	853	686
	655	765	738	507	513	487	445	507	375	491	765	478
	490	491	507	462	466	445	383	449		400	507	400
	429	445	474	412			387	408			478	
	366	404	437								404	
	324		367									
ISSR07	1460	1745	685	1745	1000	1706	1745	1706	1397	1397	1397	1366
	1000	1460	469	1493	801	1460	1397	1428	957	1000	670	1093
	783	1069	402	1222		1169	1118	1143	429	685	449	502
	685	819		1000		1000	525	978		548		
	525			801		701		685		491		
				685		480		491				
ISSR08	2128	1624	1624	1941	1709	2042	1666	1666	1709	1753	1753	1753
	816	1504	1504	1624	1504	1624	976	927	1001	1624	1583	1001
	572	859	859	881	1053	904	881	756	617	1027	904	529
	432	491	516	491	859	737	543	543	516	881	529	
					586	529					601	
				478						516		

†P=Potrero, PS=Puebla SM3, RN=Rendidora, S=Salamanca, DM=Diamante, MZ=Manzano Tepetlixpa, MR=Morado R, YH=Yema de Huevo, CH=CHF1 Chapingo, ML=Milpero Tetela, TC=Tecozautla 04, TA=Tamazula SM3.

Cuadro 3. Tamaño de los alelos portados por doce variedades de referencia de tomate de cáscara (cont.)

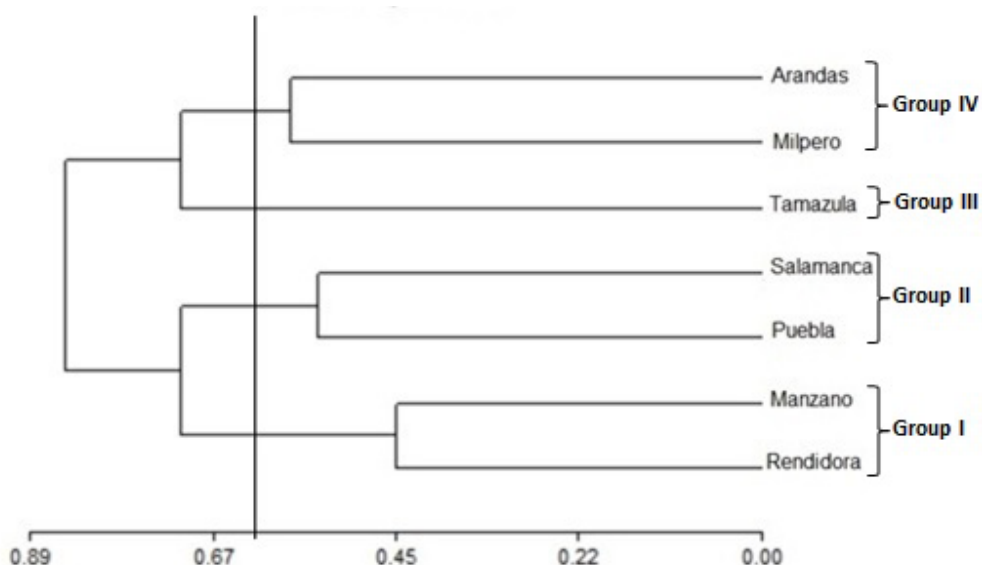
Iniciador	PS <sup>†</sup>	P	DM	ML	MR	MZ	RN	CH	YH	SL	TC	TA
ISSR10	938	1319	1350	1382	1382	1350	1382	1382	1382	1382	1414	1783
	770	1022	1022	1175	1046	1046	1230	1230	1096	1096	1121	1481
	597	849	869	1022	889	910	910	910	932	932	932	976
	512	510	522	910	586	774	739	534	369	756	573	792
	350	352	344	722	498	600	643	360		614		614
				534	360	360	522			369		395
						360						
UBC811	1143	1486	1451	1451	1966	1557	1451	1418	1071	1418	1451	1966
	938	1071	1096	1096	1261	1096	1096	1096	809	1176	1022	1670
	792	848	809	809	1022	828	809	809	484	1022	809	1451
	737	507	507	507	809	641	507	484		809	484	1122
	549				507	495				495		809
	519											626
	370											484
												318
UBC822	1095	1702	1956	2002	1742	2114	2192	2192	2192		2192	2002
	826	1382	1742	1825	1148	739	1825	1867	1230		1588	1481
	589	1096	1096	1414	600	586	1447	1121	658		1230	1319
		830	600	910		476	1096	910	487		1096	1121
		586	433	600			889	658			954	830
		433					658				658	673
UBC823	1168	1771	1740	2629	1740	2671	3512	1618	1618	1837	1804	1804
	965	1504	1504	1771	1147	1589	1589	1211	1233	1589	1647	1647
	718	1147	1168	1618		1326	1190			1233	1233	1256
	549			1147		1168						
	457											
UBC835	784	3393	3131	3393	1862	3000	2868	2868	3000	2868	3000	2868
	577	1826	1780	1488	1826	1862	1922	1862	1910	1922	1691	1922
	482	1450	1488	805	708	1780	1780	1780	1735	1735	1450	1735
	337	826	963	708	577	1378	1488	1450	1450	1414	805	1414
	261	708	805	548	482	826	963	963	805	826	690	805
		495	708	482	328	708	826	784	708	726	470	690
		413	548	320		562	726	690	562	470	422	548
		320	482			482	577	548	470	320	312	470
			424			413	482	482	304			312
			320			320	422	422				
						320	320					
UBC836	778	1537	1537	15372	1571	1571	1503	1318	1318	1606	2254	1571
	682	1234	1289	1289	1289	1318	1347	1035	1035	1181	13475	1347
	490	1130	1105	1058	1155	1013	1058	697	712	1058	1155	1081
	361	1013	991	697	1013	682	697	459	469	697	1058	728
		667	682	459	682	449	459			469	697	512
		449	439		469						469	

<sup>†</sup>P=Potrero, PS=Puebla SM3, RN=Rendidora, S=Salamanca, DM=Diamante, MZ=Manzano Tepetlixpa, MR=Morado R, YH=Yema de Huevo, CH=CHF1 Chapingo, ML=Milpero Tetela, TC=Tecoautla 04, TA=Tamazula SM3.

**Cuadro 3. Tamaño de los alelos portados por doce variedades de referencia de tomate de cáscara (cont.)**

Iniciador	PS†	P	DM	ML	MR	MZ	RN	CH	YH	SL	TC	TA
UBC841	858	2441	2497	2497	2229	2441	2555	2441	877	939	2613	2179
	443	2082	2179	2179	1352	2179	2130	918	715	748	939	939
	345	898	1415	1383	1127	1352	1415	715	570	464	748	732
		699	898	898	898	1153	939	454		370	464	464
		454	668	668	699	918	715	361			370	370
		353	434	454	434	699	454	294				
		345	345	353	443	353						
					361							
UBC844	2323	1207	1234	1207	1291	2018	2120	1973	1129	1104	1056	1056
	1233	863	1032	1056	1104	1104	1320	1207	755	772	772	755
	1049		844	844	826	826	1080	1010			516	
	917			577		552	826	807				
	749						604	552				
	499											
UBC848	1392	1974	1320	1292	1264	1712	1349	1320	1379	1379	1440	1349
	1049	1320	1040	1018	1040	1349	1040	1063	1110	1110	1349	1110
	834	1040	802	820	8382	1063	838	838	856	856	1110	894
	729	802			704	820		768	768	785	856	785
						736					785	
UBC873	1615	2119	2222	2174	2119	2170	1751	2170	2069	2119	2276	
	1289	1630	2020	1973	2020	2069	1347	2069	1670	1710	2170	
	10157	1315	1630	1670	1670	1518	1036	1670	1347		1751	
	664	965	1284	1315	1347	1284	857	1284	1036		1012	
	559	797	1012	1012	1012	1036	675	1036	836		675	
		613	817	836	836	836		836	708			
		675	659	691	675		691					

†P=Potrero, PS=Puebla SM3, RN=Rendidora, S=Salamanca, DM=Diamante, MZ=Manzano Tepetlixpa, MR=Morado R, YH=Yema de Huevo, CH=CHF1 Chapingo, ML=Milpero Tetela, TC=Tecoautla 04, TA=Tamazula SM3.



**Figura 1. Dendrograma generado con la distancia de Jaccard (1-S) para siete razas de tomate de cáscara.**



Grupo I debido a que las características del fruto y de las semillas fueron más similares a las del Grupo IV, ya que esta variedad produce frutos púrpura medianos conteniendo semillas pequeñas en un número intermedio por fruto, con cálices completamente cerrados alrededor del fruto, fuertemente pigmentados y con adherencia intermedia a estos. Tienen floración tardía pero un periodo intermedio para alcanzar la madurez comercial y una larga vida de anaquel.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos de este estudio proporcionan las huellas genómicas de ADN de las variedades de referencia del tomate de cáscara que complementan las caracterizaciones morfológicas disponibles para el registro de nuevas variedades de este cultivo. Los marcadores ISSR demostraron la variabilidad genética y probaron ser herramientas muy poderosas para estimar las similitudes genéticas y diversidad entre y dentro de variedades de tomate de cáscara. Las relaciones genéticas presentadas entre razas son útiles para futuros programas de mejoramiento a través de selección de progenitores genéticamente divergentes.

## Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Universidad Autónoma Chapingo a través de la Dirección General de Investigación y Posgrado.

## Referencias

- Choi J. K., Murillo, G., Bao-Ning, S., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D., & Meht, R. G. (2006). Ixocarpalactone A isolated from the Mexican tomatillo shows potent antiproliferative and apoptotic activity in colon cancer cells. *FEBS J.* 273:5714-5723. doi 10.1111/j.1742-4658.2006.05560.x
- De la Cruz, M., Ramírez, F., & Hernández, H. (1997). DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Molecular Biology Reporter* 15: 319-325. doi 10.1023/A:1007428818078
- Escobar-Guzmán, R. E., Hernández-Godínez, F., Martínez de la V., O., & Ochoa-Alejo, N. (2009). *In vitro* embryo formation and plant regeneration from anther culture of different cultivars of Mexican husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 96:181-189. doi 10.1007/s11240-008-9474-x
- FAO (2014). FAO Statistical Yearbook 2014. World food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. <http://www.fao.org/3/a-i3592e.pdf>
- Gill L., H. R., Rosales C., R., Hernández D., S., & Mayek P., N. (2014). Morphological and molecular characterization of common bean landraces cultivated in the semi-arid Mexican high plateau. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 49(4):525-540. doi 10.2135/cropsci2004.0501
- Johnson, D.E. 2000. Métodos Multivariados Aplicados al Análisis de Datos. International Thomson Editors. 566 pps.
- Ponce-Valerio, J. J., Peña-Lomelí, A., Sánchez-del-Castillo, F., Rodríguez-Pérez, J. E., Mora-Aguilar, R., Castro-Brindis, R. & Magaña-Lira, N. (2011). Evaluation of pruning in two husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) varieties cultivated in field. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17(3):151-160. doi 10.5154/r.rchsh.2011.17.026
- Santiaguillo H., J. F., Vargas P., O., Grimaldo J., O., Magaña L., N., Caro V., J. F., Peña L., A. & Sánchez M., S. (2012). Diagnóstico del Tomate de Cáscara. Universidad Autónoma Chapingo. 46 p. [https://www.researchgate.net/publication/283492117\\_Diagnostico\\_del\\_Tomate\\_de\\_Cascara](https://www.researchgate.net/publication/283492117_Diagnostico_del_Tomate_de_Cascara)
- Sharma, N., Bano, A., Dhaliwal, H. S., & Sharma, V. (2015). Perspectives and possibilities of Indian species of genus *Physalis* (L.). A comprehensive review. *Eur. J. Pharm. Med. Res.* 2(2):326-353. [https://storage.googleapis.com/journal-uploads/ejpmr/article\\_issue/1425120993.pdf](https://storage.googleapis.com/journal-uploads/ejpmr/article_issue/1425120993.pdf)
- Tilahun, S., Paramaguru, P., & Hanna, B. J. R. (2013). Genetic diversity in certain genotypes of chili and paprika as revealed by RAPD and SSR analysis. *Asian J. Agric. Sci.* 5(2):25-31. doi 10.19026/ajas.5.2580
- Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV). 2007. Tomate de cáscara. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. n:\orgupov\shared\tg\husk tomato\tg\_236\_1\_s.doc
- Vargas-Ponce, O., Pérez-Alvares, L. F., Zamora-Tavares, P., & Rodríguez, A. (2011). Assessing genetic diversity in Mexican husk tomato species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 29:733-738. doi 10.1007/s11105-010-0258-1
- Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV). 2007. Tomate de cáscara. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. n:\orgupov\shared\tg\husk tomato\tg\_236\_1\_s.doc
- USDA (2015). Tomatillo. National nutrient database for standard reference release 27. <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3598>.