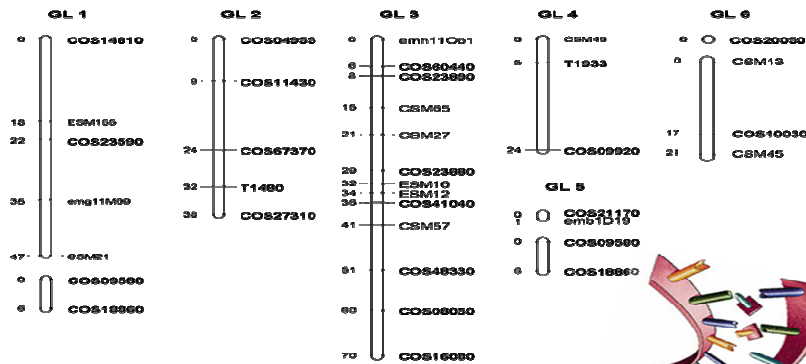




MÁSTER EN MEJORA GENÉTICA VEGETAL

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y GENOTIPADO
DE UNA POBLACIÓN INTERESPECÍFICA DE
Solanum incanum x *Solanum melongena* L.
DESARROLLO DE MARCADORES CAPs A PARTIR DE COSII Y
REALIZACIÓN DE MAPA GENÉTICO



Tesis para la obtención del título de Máster
presentada por D. Manuel Blasco Villarroya

Tutores y directores de Tesis:

Dr. Jaime Prohens Tomás

Dr. Santiago Vilanova Navarro

Valencia, Diciembre de 2009

Para mi mujer, para mis padres, para mi hermano, para mí



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrodiversidad Valenciana

Dr. Jaime Prohens Tomás, profesor del Máster Oficial Interuniversitario en Mejora Genética Vegetal en calidad de tutor/director de Trabajo Fin de Máster por la presente,

RECONOCE:

Que el Trabajo Fin de Máster realizado por el/la alumno: Manuel Blasco Villarroya, con el título 'Caracterización morfológica y genotipado de una población interespecífica de *Solanum incanum* x *Solanum melongena* L. Desarrollo de marcadores CAPs a partir de COSII y realización de mapa genético' y dirigido por Jaime Prohens Tomás y Santiago Vilanova Navarro reúne las condiciones necesarias para completar la formación del alumno y por tanto

AUTORIZA:

La presentación del citado Trabajo Final de Máster para su defensa ante el correspondiente Tribunal.

Y para que conste a los efectos oportunos así lo firma,

Dr. Jaime Prohens Tomás

Máster Oficial Interuniversitario
en Mejora Genética Vegetal

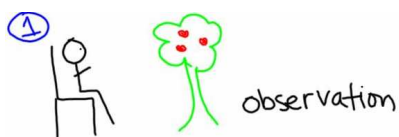
Valencia, a 30 de noviembre de 2009

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CULTIVO DE LA BERENJENA	1
1.2. GENERALIDADES DEL CULTIVO DE LA BERENJENA (<i>Solanum melongena</i>)	3
1.2.1. Botánica	3
1.3. TAXONOMÍA	4
1.4. EL COMPLEJO BERENJENA	5
1.5. ORIGEN	6
1.6. DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN	8
1.7. ESPECIES RELACIONADAS	10
1.8. COMPOSICIÓN Y USOS	12
1.9. DIVERSIDAD DE LA BERENJENA. RECURSOS GENÉTICOS.	13
1.10. LIMITACIONES DE LA MEJORA CLÁSICA Y UTILIDAD DEL MAPEO MOLECULAR	14
1.11. MARCADORES MOLECULARES. IMPORTANCIA DE LOS MARCADORES EN LA MEJORA GENÉTICA VEGETAL	15
1.11.1 Tipos de marcadores genéticos	15
1.11.2. Marcadores moleculares COS (Conserved Ortholog Set)	16
1.12. CONSTRUCCIÓN DE MAPAS GENÉTICOS	18
1.12.1. Historia del mapeo en berenjena	18
1.12.2. Generación de mapas	18
1.13. MAPEO COMPARATIVO	19
2. OBJETIVOS	23
3. MATERIAL Y MÉTODOS	25
3.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA	25
3.1.1. Material vegetal	25
3.1.2. Descriptores caracterización morfológica	25
3.1.3. Condiciones de cultivo	27
3.1.4. Manejo del riego	28
3.1.5. Fertilización	29
3.1.6. Poda y entutorado	29
3.1.7. Tratamientos fitosanitarios	29
3.2. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR. GENOTIPADO	30

3.2.1. Material Vegetal	30
3.2.2. Extracción de ADN	30
3.2.3. Amplificación COSII	30
3.2.4. Secuenciación y búsqueda de SNPs	33
3.2.5. Búsqueda de CAPs y diseño de dCAPs	34
3.2.6. Aplicación de CAPs y dCAPS a la generación segregante	35
3.2.7. Construcción del mapa de ligamiento	36
3.2.8. Mapeo comparativo y relaciones sinténicas	36
4. RESULTADOS	39
4.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS MATERIALES	39
4.1.1. Fichas de los materiales caracterizados	39
4.2. CARACTERES CUANTITATIVOS	75
4.2.1. Material P ₁ , P ₂ , F ₁ y F ₂	75
4.3. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR. GENOTIPADO	76
4.3.1. Obtención de marcadores CAPs a partir de los COSII	76
4.3.2. Construcción del mapa de ligamiento	80
4.3.3. Mapeo comparativo y relaciones de sintenia. Berenjena vs Tomate	83
4.3.4. Estudio de relaciones sinténicas entre berenjena y tomate.	86
5. CONCLUSIONES	89
6. BIBLIOGRAFÍA	91

INTRODUCCIÓN



I am he as you are he as you are me and we are all together
See how they run like pigs from a gun, see how they fly
I'm crying

1. INTRODUCCIÓN

1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CULTIVO DE LA BERENJENA

La berenjena (*Solanum melongena* L.), conocida como *eggplant* en Estados Unidos, como *aubergine* en Francia e Inglaterra y como *brinjal* en la India, es una de las pocas especies de solanáceas cultivadas que no es originaria de América. La berenjena se cultiva en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, especialmente en Asia, así como en países del Mediterráneo. Según datos de 2007 la producción total de berenjena a nivel mundial fue de 32039.10^3 t, lo cual la sitúa en el sexto lugar mundial entre las hortalizas en cuanto a producción, siendo únicamente superada por el tomate, la sandía, las coles, la cebolla y el pepino (FAO, 2007). A nivel mundial los principales productores son: China con 18000.10^3 t, y la India con 8450.10^3 t. Le siguen, aunque a mucha distancia, Egipto con 1000.10^3 t y Turquía con 791.10^3 t (Tabla 1). En Europa se producen 838.10^3 t, siendo Italia y España los mayores productores con 271.10^3 t y 185.10^3 t respectivamente. El rendimiento medio a nivel mundial de berenjena es de 27 t/ha, aunque existe una gran variación entre países. De esta forma, en países como China e India que son los mayores productores de berenjena del mundo, los rendimientos son de 15 y 16 t/ha respectivamente, mientras que en países como España y Francia los rendimientos medios son de 43 y 41 t/ha respectivamente (Tabla 1). Unos casos especiales son los de Holanda y Bélgica que gracias a métodos intensivos de cultivo bajo invernadero obtiene rendimientos medios de 420 y 266 t/ha respectivamente, resultando un valor 15 veces mayor al de la media mundial en el caso de Holanda (Figura 1).

Tabla 1. Producción de berenjena en los principales países productores (Datos FAO, 2007).

País	Producción (t)	Área cultivada (ha)	Rendimiento (t/ha)
China	18.000.000	1.200.000	15,0
India	8.450.200	512.800	16,5
Egipto	1.000.000	43.000	23,3
Turquía	791.190	30.000	26,4
Indonesia	390.000	53.000	7,4
Iraq	380.000	22.000	17,3
Japón	375.000	12.000	31,3
Italia	271.358	12.059	22,5
Sudán	230.000	12.000	19,2
Filipinas	198.000	21.000	9,4
España	185.000	4.250	43,5

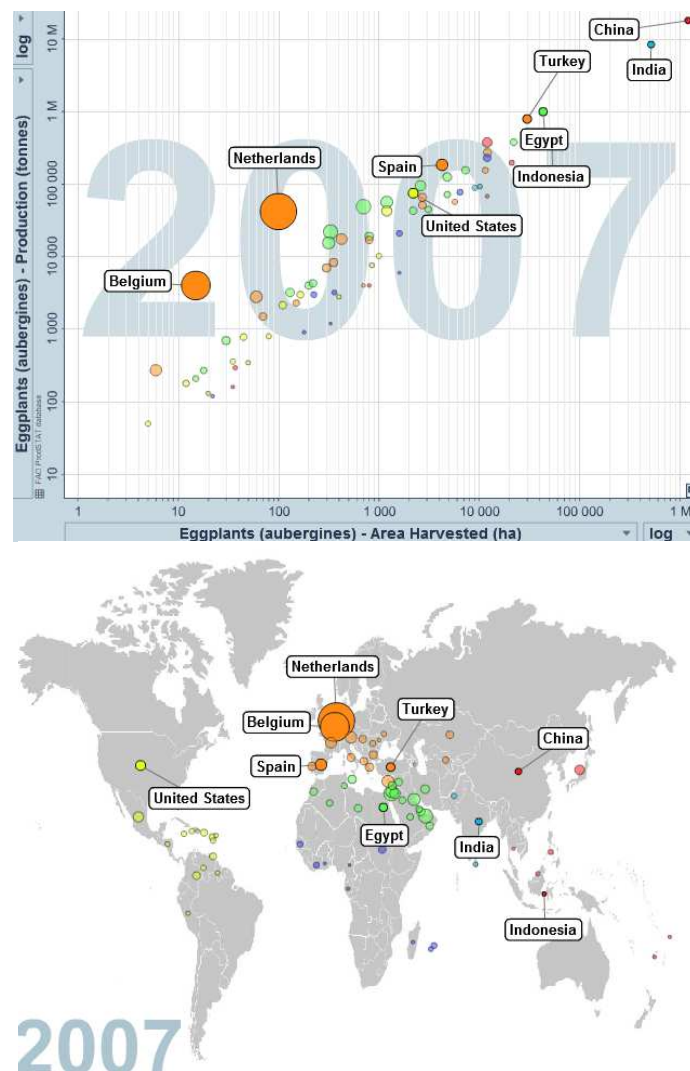


Figura 1. Producción de berenjena frente al área cosechada. El tamaño de los círculos representa el rendimiento de los principales países productores (FAOSTAT, 2007)

Según datos del último anuario de Estadística Agroalimentaria (MAPA, 2007) en España se cultivan 3.617 ha, de las cuales 15 ha son de cultivo en secano, y 3.602 ha son de cultivo en regadío. La producción total es de 179.826 t. La comunidad autónoma con mayor producción es Andalucía con un total de 139.654 t, el resto de principales zonas productoras, Comunidad Valenciana, Cataluña, Extremadura y Navarra, no alcanzan a superar el valor de 10.000 t, (Figura 2). La producción en las restantes zonas del país es prácticamente testimonial (MAPA, 2007).

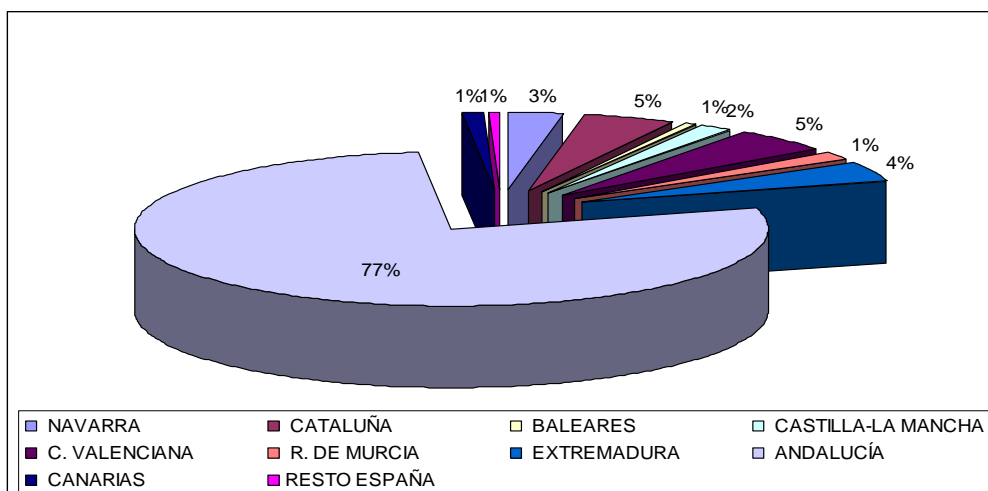


Figura 2. Gráfico de la producción de berenjena en las Comunidades Autónomas de España (MAPA, 2007)

Según el informe del Sector Agrario (CAPA, 2.007), la producción total en la Comunidad Valenciana es de 9.250 t, en una superficie cultivada de 201 ha, de las que 6.870 t corresponden a la provincia de Valencia, 1.620 t a Alicante y 760 t a Castellón.

1.2. GENERALIDADES DEL CULTIVO DE LA BERENJENA (*Solanum melongena* L.)

1.2.1. Botánica

La berenjena es una planta herbácea anual pero, en climas favorables, puede rebrotar y mantenerse en cultivo más de un año (Figura 3). Su sistema radical es fuerte y está muy desarrollado, tanto en profundidad como lateralmente. Posee un tallo semileñoso, cilíndrico, verde o de color violáceo, piloso, rígido, erecto y de crecimiento indeterminado, alcanzando al aire libre, una altura de entre 0,5 y 1,5 m. (Illescas y Vesperinas, 1989).

Las hojas son sencillas, alternas ovadas u oblongo-ovadas y grandes, con los márgenes ligeramente lobulados, recubiertas en el envés de una vellosidad de color grisáceo. También es frecuente la presencia de espinas en las nerviaciones prominentes o en el pecíolo de las hojas.



Figura 3. Planta y semillas de *Solanum melongena*

Las flores, de color blanco o violeta más o menos intenso según la variedad, suelen aparecer en forma solitaria o bien formando ramilletes de dos o más flores. La corola es rotada, de 2,5 a 4,5 cm. de diámetro. Las anteras tienen de 6 a 8 mm. de largo y el estilo es exerto o inserto. El cáliz es persistente, tomentoso y espinoso (Quagliotti, 1979).

El fruto es una baya carnosa de forma muy variable dependiendo del tipo de berenjena que se trate, aunque predominan las formas redondas, globosas y alargadas, de colores muy diversos en la madurez comercial, siendo habituales el morado oscuro el violeta, el negro, el amarillo o el blanco. La pulpa es carnosa, de coloración amarilla, blanca o verde, volviéndose parda al contacto con el aire debido a la oxidación. Las semillas son pequeñas, aplastadas, de color marrón y muy abundantes, obteniéndose hasta 2.500 semillas/fruto (Figura 3). Su poder germinativo medio en condiciones normales es de 4-6 años.

1.3. TAXONOMÍA

Dentro de las angiospermas, la berenjena (*Solanum melongena*) se encuentra dentro de los siguientes taxones:

Clase: *Magnoliopsida*
 Subclase: *Lamiidae*
 Superorden: *Solananae*
 Orden: *Solanales*
 Familia: *Solanaceae*
 Subfamilia: *Solanoideae*

Tribu: *Solaneae*
 Género: *Solanum*
 Subgenero: *Leptostemonum*
 Sección: *Melongena*
 Serie: *Incaniformia*
 Especie: *Solanum melongena* L.

La familia *Solanaceae* está compuesta por 83 géneros que engloban unas 1.000-1.400 especies de amplia distribución por todo el mundo, especialmente en zonas templadas y tropicales (D'Arcy, 1975).

Esta familia se caracteriza por presentar flores pentámeras, con sépalos persistentes, frecuentemente acrescentes. El ovario es súpero, bilocular, raramente pluriocular y con varios óvulos por lóbulo. Los frutos son bayas, drupas o cápsulas, indehiscentes y con varias semillas por lóbulo.



Figura 4. Flor de *Solanum melongena*

El género *Solanum* es el más numeroso dentro de la familia *Solanaceae*. Fue establecido por Linneo (Linneo, 1753) en su obra *Species plantarum*. En él se encuentran plantas herbáceas, arbustivas o arbóreas, usualmente espinosas. La corola es pentagonal o estrellada. Las anteras forman una columna que rodea al estilo y presentan dehiscencia por poros apicales (Figura 4). Los frutos son bayas globulosas.

Solanum melongena pertenece a uno de los grupos no tuberosos del género *Solanum* (Khan, 1979). Se trata de una especie diploide, con un número cromosómico de $2n=42$. Se trata de una planta muy termófila, su cero vegetativo se encuentra en 10 °C.

1.4. EL COMPLEJO BERENJENA

La especie cultivada *Solanum melongena*, junto con formas adventicias naturalizadas del sudeste asiático, conocido como *Solanum melongena* var. *Insanum* y la especie silvestre *Solanum incanum* forman lo que se denomina el 'complejo berenjena' (Pearce y Lester, 1979; Lester y Hasan, 1991; Daunay, 1996b).

El complejo berenjena ha sido dividido en 8 grupos, identificados por una letra mayúscula, que corresponden a formas distintas (Figura 5) (Lester y Hasan, 1991; Daunay, 1996b). Dentro de los grupos A, B, C y D se encuentra la especie *Solanum incanum*,

considerada en sentido amplio. Dentro de los grupos E, D, F y G se encuentra la especie *Solanum melongena*, incluyendo la var. *insanum*.

Los grupos A y B están formados por plantas silvestres que se encuentran en la región del Este y Sur de África. Dentro del grupo C se encuentra *Solanum incanum* en sentido estricto. En el grupo D se engloba a las formas correspondientes a *Solanum Liechtentein*. El grupo E está formado por plantas de *Solanum melongena* var. *Insanum* muy espinosas y de poca altura que crecen de forma adventicia en campos abiertos. El grupo F comprende formas moderadamente espinosas, que crecen como adventicias en huertos, en zonas de vegetación modificada y bordes de caminos. El grupo G corresponde a cultivares primitivos, pero que todavía se cultivan ampliamente en el sudeste de Asia. El grupo H corresponde a cultivares modernos de berenjena y se encuentra distribuido por todo el mundo.

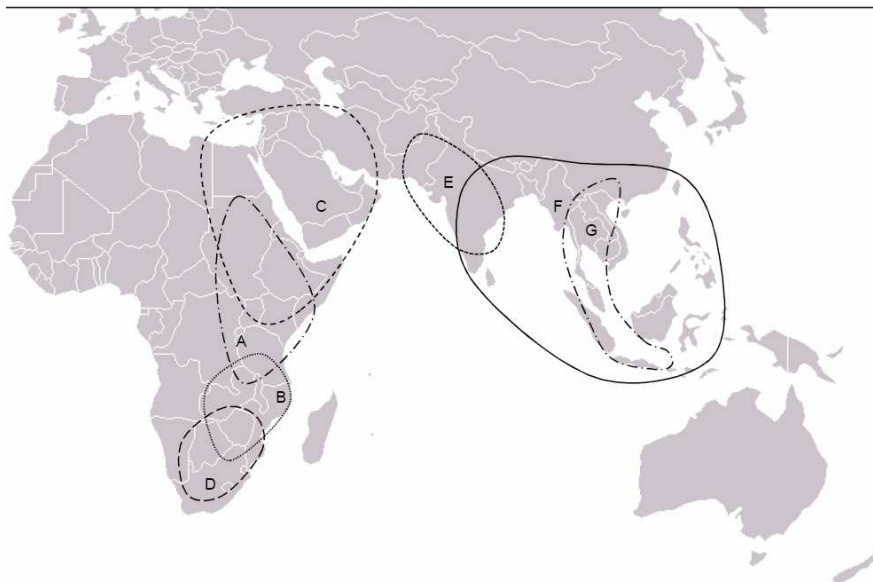


Figura 5. Distribución de las formas del 'complejo berenjena'. El grupo H se encuentra distribuido por todo el mundo

1.5. ORIGEN

Muchas de las *Solanaceae*, y en especial muchas de las especies domesticadas del género *Solanum*, son originarias del continente americano. Una interesante excepción la constituyen la berenjena *Solanum melongena* y sus especies relacionadas, las cuales tienen su origen en el Viejo Mundo (Daunay et al., 2001a). Los estudios de variación a nivel morfológico y molecular indican que la berenjena fue probablemente domesticada en la región indo-birmana a partir de la especie silvestre *Solanum incanum*, la cual guarda muchas similitudes morfológicas con *S. melongena*. Ambas especies tienen un hábito de crecimiento similar y es

posible la obtención de híbridos entre ellas completamente fértiles y con meiosis regular (Lester y Hasan, 1990; Anis et al., 1994).

A pesar de que *S. incanum* únicamente se encuentra distribuida de forma natural en las regiones ecuatoriales del Este de África y en Oriente Medio (Daunay et al., 1997), estudios basados en marcadores alozímicos (Karihaloo y Gottlieb, 1995) encontraron una identidad genética entre *S. melongena* y *S. incanum* de $I=0.963$. Estos autores indican que valores de identidad genética tan altos generalmente se obtienen entre poblaciones de una forma domesticada y su ancestro silvestre, lo que apoyaría la hipótesis de *S. incanum* como progenitor de *S. melongena*. Por otra parte Lester y Hasan (1991), basándose en análisis morfométricos y en análisis con isoenzimas de hojas y proteínas de semillas, llevados a cabo en un elevado número de accesiones, asumen que las formas ancestrales de *S. melongena* son originarias de los trópicos de África (donde se encuentran muchas de las especies relacionadas con la berenjena) y de Oriente Medio.

Numerosos estudios basados en el uso de aloenzimas (Isshiki et al., 1994; Karihaloo y Gottlieb, 1995; Kaur et al., 2004), proteínas de semillas (Karihaloo et al., 2002), ADN de cloroplastos (Sakata et al., 1991; Sakata, 1992; Sakata y Lester 1994, 1997) y ADN nuclear (Karihaloo et al., 1995; Mace et al., 1999; Furini y Wunder, 2004) coinciden en confirmar la estrecha relación existente entre los grupos A, B, C, D, E, F, G y H, así como la existencia de una gran diversidad dentro del grupo de *S. incanum* y la poca variabilidad dentro del grupo de *S. melongena*, lo cual viene a confirmar la existencia de un cuello de botella genético ocurrido durante la evolución y domesticación de la berenjena a partir de una base genética estrecha.

Otros investigadores han sugerido que las formas ‘silvestres’ de berenjena del sudeste asiático, correspondientes al grupo E (*S. insanum*), serían el ancestro de la forma cultivada (Deb, 1989). En efecto, estas formas presentan una elevada similitud a nivel molecular con la berenjena cultivada. Así, Karihaloo y Gottlieb (1995), encontraron una identidad genética entre ambas formas de $I=0.963$ para marcadores alozímicos y de $I=0.947$ para marcadores RAPD. Sin embargo, el hecho de que estas formas únicamente se encuentren en ambientes modificados por los humanos, sugiere que son escapes de formas cultivadas que han evolucionado en dichos ambientes (Lester y Hasan, 1990).

Lester y Hasan (1990, 1991) sugieren que en el Neolítico, o incluso en el Paleolítico, *S. incanum* acompañó al ser humano en sus desplazamientos desde el Oriente Medio hasta la India como adventicia. Es más, las raíces, hojas y frutos de estas especies se usan con fines medicinales, para curtir el cuero, o para el cuajado de la leche (Buyenka y Carasco, 1999; Lester

y Hawkes, 2001). Amar (2000), señala el uso de frutos de especies semi-perennes de berenjena como alimento (posiblemente *S. incanum* grupo C) en el valle del Jordán en los tiempos de los mamelucos (1250-1517).

En la región indo-birmana, bajo la selección natural y artificial, estas plantas habrían evolucionado hacia formas domesticadas. La selección tanto en la India como en otras regiones habría producido los cultivares modernos y al mismo tiempo, se habrían desarrollado formas adventicias espinosas. Como alternativa, D'Arcy y Pickett (1991) sugieren que los frutos de especies silvestres emparentadas con la berenjena podrían haber llegado desde África hasta la India arrastrados por las corrientes marinas.

1.6. DOMESTICACION Y DIFUSION

La berenjena fue domesticada a partir de sus formas silvestres en la región indobirmana (Nuez et al., 2002). Los primeros registros del uso de la berenjena se encuentran en textos sánscritos fechados 300 años antes de Cristo. En ellos se hace mención a esta planta con diversas palabras descriptivas, que sugieren su amplia popularidad como alimento y medicina: '*shakareshta*' que significa excelente vegetal; '*rajakushmand*' que significa 'melón' real, '*niphala*' refiriéndose al fruto 'azul', '*kantavrintaki*', '*kantalu*' y '*kantapatrika*' refiriéndose al carácter espinoso de la planta y '*nidralu*' refiriéndose a las propiedades narcóticas o hipnóticas de algunas partes de la planta (Nadkarni, 1927). Además el diccionario 'Shabdakalpadrumah' cita 33 nombres distintos en sánscrito para la berenjena (Khan, 1979). Toda esta variedad de nombres muestra la variabilidad de tipos y formas presentes en la India, y sugiere la presencia de formas cultivadas en esta región desde hace mucho tiempo. Por otra parte, esta hipótesis se ve reforzada por el hecho de que no se han encontrado referencias a su cultivo entre los autores griegos y latinos o clásicos, por lo que la berenjena no debía ser conocida en el Imperio Romano (de Candolle, 1983).

La berenjena fue adoptada tempranamente en China como cultivo, muestra de ello se puede encontrar en la mención que se hace de ella en tratados botánicos y agrícolas como el *Atlas de Plantas del Sur de China* escrito durante la *Dinastía Jin Occidental* (265-316 dc), el *Quimi Yiaoshu*, un manual práctico de agricultura de los tiempos de las Dinastías Norte y Sur (420-581 dc), y en el *Ts'i Min Yao Shu*, un trabajo sobre agricultura del siglo V d.c. (Hendrick, 1919). En Japón se tienen referencias de su cultivo desde el siglo VIII d.C. Presumiblemente la berenjena habría llegado a este país durante la dinastía Sung (Allard, 1996). Por otra parte, se tiene constancia de la existencia de variedades locales japonesas de la época Edo (1615-1867), algunas de las cuales todavía se cultivan a pequeña escala (Figura 6).



Figura 6. Berenjenas cultivadas en un campo japonés, (pintura de principios del Siglo XVIII) (Daunay y Janick, 2007)

La berenjena llegó a Persia en épocas tempranas pero la fecha exacta de su llegada es aún incierta. De allí fue llevada al este de África por navegantes iraníes y árabes (Enciclopedia Iránica, 1998). La llegada de la berenjena a la cuenca del Mediterráneo se produciría con la conquista musulmana de estas tierras (Daunay, 2008).

Dentro del mundo musulmán la berenjena adquirió importancia como cultivo hortícola. En el siglo XI, la berenjena fue objeto de varios '*hadices*' (narración o relato referido al profeta Mahoma) y en el siglo siguiente en el tratado de agricultura '*La Agricultura Nabatea*' se encuentran numerosas referencias a este cultivo y se citan seis tipos de berenjena, las cuales difieren en la morfología del fruto (Watson, 1998). En el siglo X ya se cita varias veces en el calendario de Córdoba de Arib. En el siglo XII, Abu Zacarías (1802), indica que en Al-Andalus se encuentran cuatro tipos de berenjena: la local, la cordobesa, la egipcia y la siria. Existe constancia de que en la época del Mundo Islámico medieval la berenjena era consumida de muchas formas distintas. Así en el libro de cocina de *Kitab-al-Tabij* se describen dieciocho recetas distintas para preparar la berenjena (Watson, 1998).

Ya desde la Península Ibérica, la berenjena se habría ido difundiendo, aunque lentamente, a otros países europeos. En Italia, las primeras referencias son de finales del siglo XIV; en Francia, las primeras citas de su cultivo son del siglo XVII en la región de Provenza (Daunay, 1996a). En el siglo XIV ya existen referencias de la berenjena en el África Oriental, y los términos utilizados en algunas de las lenguas de la región, por ejemplo '*a-bela*' en tu o '*patansi-jato*' en mandinga sugieren que fue introducida en la región por los árabes (Watson, 1998).

La introducción en América la debieron realizar los españoles. Entre otros cronistas, el padre Bernabé Cobo (1964a), la describe como una hortaliza habitual en el reino de Perú. También Jiménez de la Espada (1965), indica que se trata de una hortaliza habitual en este país, donde sin embargo, no ha alcanzado la importancia que tiene en el Viejo Mundo. Así, el padre Bernabé Cobo (1964b), cita que a pesar de lo bien que se dan las berenjenas en el reino de Perú ‘no se tienen de ellas la estimación que en España’.

El hecho de pertenecer a la familia de las Solanáceas probablemente debió restringir su expansión, al menos en Europa. Al igual que otras Solanáceas comestibles, cómo el tomate (*Solanum lycopersicum* L) o el pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995; Prohens et al., 1996), la berenjena gozó de fama de planta poco saludable. Efectivamente, muchas Solanáceas silvestres son altamente tóxicas, y de los nombres por los que se conocía a la berenjena era por el de ‘*Mala Insana*’ (‘manzana insana’ en latín), de hecho en muchos tratados botánicos no se aconsejaba su consumo (Daunay, 1996a). También el nombre italiano ‘melazana’, del cual derivó el de ‘melanzana’ y el de ‘melongena’, significa ‘manzana loca’ (Heiser, 1969; Choudhoury, 1995a). Incluso entre los árabes, en que la berenjena era muy apreciada, algún tratadista, como Ibn Wahsiyya, indica que esta planta puede causar la muerte si se come cruda y la incluye en su tratado sobre venenos (Watson, 1998).

1.7. ESPECIES RELACIONADAS

La taxonomía de la berenjena y de sus especies relacionadas es muy compleja y confusa. La existencia de una sucesión continua de formas hace que los límites entre taxones muchas veces no sean claros.

Entre las especies emparentadas con *S. melongena* hay dos africanas cultivadas, *S. aethiopicum* y *S. macrocarpon*, y la especie silvestre y ancestro de la berenjena, *Solanum Incanum*. En Europa son poco conocidas, pero en África Occidental se usan tanto por sus frutos como por sus hojas. Estos materiales constituyen unos recursos genéticos de gran interés para la mejora de la berenjena y para la ampliación de la base genética de este cultivo.

Solanum aethiopicum, pertenece taxonómicamente al género *Solanum*, subgénero *Leptostemonum* y sección *Oliganthes* y comprende tres grupos: Shum, Kumba y Gilo. Estas especies se han ido adaptando según la climatología de cada zona distribuyéndose en áreas distintas. El grupo Shum se encuentra en las partes más húmedas de África, en las zonas semiáridas del occidente de Sahel hasta el norte de Nigeria encontramos berenjenas del grupo Kumba y en las zonas con más porcentaje de lluvia están las del grupo Gilo.

La mayoría de los cultivos de *Solanum macrocarpum* se encuentran en América del Sur, en el Caribe y en el sureste de Asia. En cuanto a África, en muchos países, estas plantas están consideradas como un cultivo menor. Las flores de *S. macrocarpum* se distinguen de *S. aethiopicum* porque tiene los pétalos soldados, además son de color morado claro y con un diámetro de 25-45 mm. Las hojas, brillantes y glabras, pueden tener diferentes formas y tamaños.

La mayoría de formas primitivas de *Solanum incanum* se originaron en las regiones ecuatoriales parte Este de la Sabana Africana (Lester y Hasan, 1991). La diversidad de topografías, climas y suelos hicieron posible la evolución de los distintos ecotipos existentes hoy en día, los que fueron tratados por los taxonomistas como especies distintas a lo largo de la mitad del siglo XIX y la mitad del s. XX. Posteriormente se llegó a la conclusión de que era mejor agruparlas a todas ellas dentro del complejo *S. incanum* (Figura 7), y dentro de éste, agruparlas en 4 subgrupos distintos, correspondientes a varias especies diferentes.



Figura 7. Fruto de *Solanum incanum*

Grupo A (*S. campylacanthum*)

Plantas silvestres de los bosques de la Sabana del África ecuatorial y tropical. Son altamente variables, arbustivas o herbáceas de 0,2 a 2,5 m de altura, más o menos espinosas en los tallos y en las hojas, que son desde ovaladas a lanceoladas. Las inflorescencias varían enormemente en tamaño y pueden ser flor única o ramillete de flor, teniendo de 5 a 50 flores por inflorescencia, siendo alguna de ellas hermafroditas dando, consecuentemente, uno o más frutos por inflorescencia.

Grupo B (*S. panduriforme*)

Plantas silvestres de las praderas de la Sabana del sureste africano. Similares a las especies del Grupo A, salvo que son más pequeñas y de hojas más estrechas.

Grupo C (*S. incanum sensu stricto*)

Se considera como *S. incanum* en sentido estricto. Engloba a las plantas silvestres de hábitats inalterados por el ser humano tales como: zonas secas, cursos de las aguas estacionales y zonas desérticas. Compuesto por plantas tomentosas y espinosas con hojas ampliamente ovóticas e inflorescencias de 4 a 5 flores con una sola flor hermafrodita. Frutos de 1,6 a 2,1 cm. de diámetro.

Grupo D (*S. lichtensteinii*)

Conjunto silvestre de plantas xerófitas de las zonas semidesérticas de sureste de África. Plantas densamente tomentosas excepto en la parte superior de las hojas que tienen color verde oscuro. Presentan tallos robustos con entrenudos cortos y espinas curvadas; raíz principal larga; frutos solitarios de 3,5 a 4,5 cm. de diámetro con un cáliz duro.

Según un árbol UPGMA construido por Sakata y Lester (1997) basado en patrones de digestión de ADN de cloroplastos, la especie más estrechamente emparentada con *S. melongena* es *S. incanum* (Figura 8).

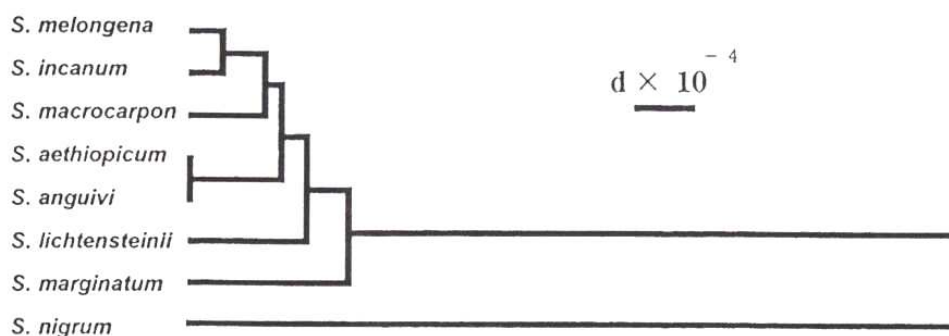


Figura 8. Árbol UPGMA de especies del género *Solanum*, basado en patrones de digestión de ADN de cloroplastos, utilizando la distancia genética de Nei y Li (Sakata y Lester, 1997).

1.8. COMPOSICIÓN Y USOS

La berenjena es una hortaliza con un elevado contenido en agua y por lo tanto, un bajo contenido en calorías. Contiene cantidades apreciables de vitamina A, ácido ascórbico, niacina, Riboflavina y Tiamina, además de algunos minerales como calcio, fósforo, hierro, sodio y potasio (Lorenz y Maynard, 1998).

El sabor amargo de algunos cultivares de berenjenas se debe a la presencia de trazas de nicotina y también glicoalcaloides y saponinas no azufradas (Som y Maity, 1986). Sin embargo, está demostrado que estos compuestos, en las cantidades que se encuentran en el fruto de

berenjena no son tóxicos en absoluto. En el caso de este fruto, el principal alcaloide tóxico es la solanina, del cual posee bastante, aunque le supera la patata.

El fruto de la berenjena también contiene niveles altos de polifenoles y cuando éste se corta, se oxidan rápidamente por la acción de la polifenol oxidasa, dando como resultado un color marrón oscuro (Rubatzky y Yamaguchi, 1996), (Figura 9).



Figura 9. Pardeamiento de la carne de frutos de *Solanum melongena*

Los frutos se consumen cuando están fisiológicamente inmaduros, evitando así la formación de semilla. Su consumo, también se ha señalado como reductor del colesterol, ayuda a prevenir la arteriosclerosis y estimula la bilis. En la India, se considera que las variedades de fruto blanco son buenas para los diabéticos (Choudhoury, 1976) y las raíces de la berenjena se utilizan por sus propiedades antiasmáticas y como analgésico (Chadha, 1993; Choudhury, 1995b). También en países como Nigeria o Guinea se usan con fines medicinales.

1.9. DIVERSIDAD DE LA BERENJENA. RECURSOS GENÉTICOS

La berenjena es un cultivo con una estrecha base genética (Prohens et al., 2005). Esto puede ser debido a que la domesticación de la berenjena se realizó a partir de un acervo genético limitado, lo cual pudo originar un cuello de botella, que contribuiría a que las variedades de berenjena cultivada presenten una baja diversidad genética (Isshiki et al., 1994, Karihaloo y Gottlieb, 1995).

El disponer de recursos genéticos con una amplia diversidad genética, adecuadamente regenerados, conservados, caracterizados y documentados es esencial para la mejora genética de este cultivo. El International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR), renombrado International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) en 1991 y Bioversity International en

2006, incluyó ya en 1977 a la berenjena en la lista de especies prioritarias cuyos recursos genéticos estaban sufriendo erosión genética (Grubben, 1977).

Estos recursos genéticos podrían verse aumentados con la realización de cruzamientos dirigidos. El aumento de variabilidad genética generada, será mayor cuanto más alejados genéticamente se encuentren los parentales, siendo los cruzamientos interespecíficos los más idóneos. En berenjena los híbridos de este tipo no presentan incompatibilidad de polen ni infertilidad de los individuos. La base genética también podría verse ampliada con la inclusión de variedades locales u obsoletas y de especies silvestres relacionadas en los programas de mejora.

1.10. LIMITACIONES DE LA MEJORA CLÁSICA Y UTILIDAD DEL MAPEO MOLECULAR

El cultivo de la berenjena se ve limitado por varios factores, ya que muchos de los caracteres de interés están controlados oligogénica o poligénicamente, lo que complica su estudio y mejora. Existe un limitado conocimiento sobre el control genético de caracteres de importancia agronómica para la berenjena.

Todo ello hace necesario la caracterización y la mejora en plantas adultas, lo que requiere del uso de invernaderos o campos de cultivo, limitando así el número de individuos a estudiar. La mejora clásica dificulta el estudio de varios caracteres a la vez en una sola progenie. Además, mucho del germoplasma relacionado que podría resultar interesante para la mejora no está suficientemente caracterizado (Daunay et al., 2001b; Robinson et al., 2001).

El uso de técnicas moleculares puede ayudar a mejorar tanto la eficiencia como la efectividad de los programas de mejora en varios aspectos. El análisis molecular de caracteres cuantitativos complejos permite determinar que loci controlan aspectos fenotípicos de mayor interés, al igual que identificar genes con menores efectos fenotípicos, siendo también útil en programas de mejora de resistencia a plagas y enfermedades. La selección asistida por marcadores, es de gran interés y ayuda para los programas de mejora mediante retrocruzamientos, puesto que permite seleccionar plantas cuando aún están en semillero, lo que reduce el número de plantas adultas a estudiar.

Mediante este tipo de técnicas es posible estudiar la diversidad y las relaciones existentes entre las distintas especies relacionadas de *Solanum*, lo que incrementaría el acervo genético a disposición de mejoradores e investigadores para la mejora de la berenjena.

1.11. MARCADORES MOLECULARES. IMPORTANCIA DE LOS MARCADORES EN LA MEJORA GENÉTICA VEGETAL

Desde los inicios de la agricultura, se ha aprovechado la variabilidad existente en la naturaleza para realizar selección, de un modo consciente o no, de especies que el hombre tenía a su alrededor, adaptándolas a sus necesidades. Este proceso de mejora se desarrolló por milenios sin un fundamento científico. Fue a partir del siglo XX, cuando se redescubren los trabajos realizados por Gregor Mendell, de manera independiente por Carl Correns en Alemania, Erich von Tschermak en Austria y Hugo de Vries en Holanda, determinando las leyes de la herencia, empezando a consolidarse la mejora sobre una base científica.

Los objetivos de mejora fueron evolucionando guiados por la agricultura comercial y tecnificada. Estos mecanismos de mejora basados en la selección, dependen de la eficacia con que se identifican los mejores genotipos en una población. En este sentido, el uso de un marcador genético (entidades heredables asociadas a caracteres económicamente importantes) facilitaría el proceso de selección, ya que se podría realizar una selección temprana de individuos, sin influencias ambientales, reduciendo así el tamaño de la población a evaluar (Staub et al., 1996).

1.11.1. Tipos de marcadores genéticos

Un marcador de buena calidad debiera tener como característica el ser: polimórfico, codominante, no epistático, neutro e insensible al medio (Nuez y Carrillo, 2000). El uso de marcadores genéticos comenzó en el primer tercio del siglo XX, se basaban en el uso de caracteres morfológicos fácilmente identificables, ligados a genes de interés de difícil evaluación fenotípica, facilitando así la selección (Sax, 1923).

A finales de la década de los 60, la tendencia fue a utilizar la variación electroforética del mismo enzima debido a su carga y peso molecular. Ambas técnicas no tuvieron gran impacto. Al mismo tiempo que se desarrollaban técnicas de manipulación y análisis de ADN, se fueron desarrollando marcadores moleculares basados en el polimorfismo de este. Ya en los 80, se investigó en un conjunto de técnicas basadas en el polimorfismo en la longitud de los fragmentos (RFLPs, Random Fragment Length Polymorphisms) resultantes de la digestión del genoma con una enzima de restricción (Tanksley et al., 1989). Estos marcadores fueron ampliamente utilizados, a pesar de la desventaja de trabajar con isotopos radioactivos y requerir ADN de alta calidad.

Contemporánea a esta técnica, se desarrolla la técnica de amplificación en cadena de la polimerasa (PCR), generando nuevas alternativas en el campo de los marcadores genéticos. A principios de los 90, surgen marcadores basados en la amplificación de fragmentos al azar de ADN (RAPDs, Random Amplification of Polymorphic DNA; SCARs, Sequence Characterized Amplified Regions), (Williams et al., 1990), con la ventaja de no requerir isotopos radioactivos y precisar bajas cantidades de ADN pero con la desventaja de ser dominantes, con la consecuente pérdida de información genética, y cuestionable reproducibilidad. En 1992 surge el primer marcador molecular bajo patente, AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), (Zabeau, 1992; Vos et al., 1995), basado en la combinación de las dos últimas técnicas donde se amplifica mediante PCR un fragmento de ADN previamente digerido con dos enzimas de restricción, así al variar las bases selectivas de los cebadores y/o empleando diferentes enzimas de restricción, se puede disponer de un número de marcadores prácticamente ilimitados. Las principales ventajas de este marcador es la facilidad para obtener un gran número de marcadores en un tiempo relativamente corto, no requerir conocimientos previos del genoma y su alta reproducibilidad, pero también se trata de marcadores dominantes, su metodología es compleja y resultan más caros que los RAPDs.

En los últimos años ha aparecido un tipo de marcador muy útil para la identificación de cultivares, análisis de sintenia, relaciones filogenéticas, desarrollo de mapas, selección asistida, análisis de diversidad genética y análisis de poblaciones, entre otros propósitos (Weber y May, 1989; Bowers y Meredith, 1997; Bowers et al., 1999; Testolin et al., 2000). Se trata de marcadores microsatélites o 'simple sequences repeats' (SSRs), definidos como secuencias nucleotídicas cortas, de 1 a 6 pb., repetidas en tándem y presentes en la totalidad del genoma de una especie, especialmente en eucariontes (Tautz y Renz 1984; Weber y May, 1989; Hancock, 1995; Rongwen et al. 1995). Dentro de las ventajas que los hacen de gran utilidad, destacan: un alto grado de polimorfismo, multialélicos, codominantes, basados en PCR, alta reproducibilidad y estar ampliamente distribuidos en todo el genoma (Powell et al., 1996), mientras que para su uso se requiere conocer el genoma de la especie a estudiar.

1.11.2. Marcadores moleculares COS (Conserved Ortholog Set)

A principios del siglo XXI, aparecieron un nuevo tipo de marcadores moleculares, los marcadores COS (Conserved Ortholog Set). Este nuevo tipo de marcadores se generaron a partir de comparar la base de datos de EST de tomate con las secuencias del genoma de *Arabidopsis*. El objetivo de esta comparativa, era la de encontrar regiones del genoma conservadas a lo largo de la evolución, para así poder asignar a genes o regiones del genoma, funciones que hasta entonces se desconocían. Esta nueva herramienta biotecnológica permite realizar mapeo

comparativo y sintenia entre un amplio rango de especies, pudiendo, por tanto, interpolar información desde las especies más estudiadas a las menos.

En 2002, quedó demostrado que los marcadores COS están conservados en los genomas de distintas plantas y que por tanto pueden ser utilizados para estudios de mapeo comparativo y filogenia entre distintas especies con tomate, patata y Arabidopsis (Fulton et al., 2002), (Figura 10).

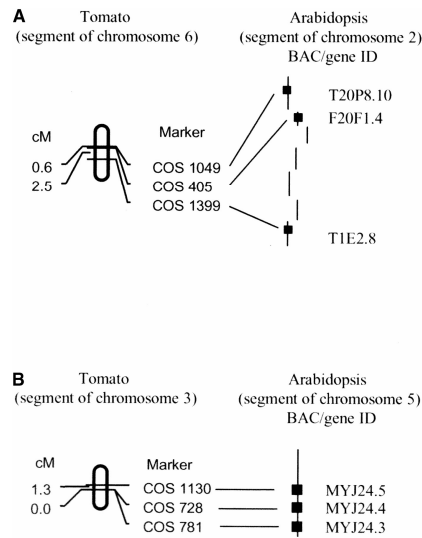


Figura 10. Ejemplo de microsintenia entre Tomate y Arabidopsis.

Sin embargo, otros tantos aspectos de la genómica comparativa y la biología evolutiva, incluyendo el mapeo comparativo, reconstrucción de genomas ancestrales (Blanchette et al., 2004), estudios de filogenia (Rokas et al., 2003) y la predicción de funciones comunes de genes (Eisen, 1998; Doganlar et al., 2002a) dependen de la disponibilidad de genes ortólogos cuya procedencia esté validada. En este sentido muchas de las bases de datos, necesarias para la validación de esos genes ortólogos, están actualmente incompletas, por lo que se necesita el desarrollo de métodos para identificar y validar genes ortólogos en tal conjunto de datos. En este contexto Wu et al. (2006), desarrollaron y validaron una serie de cebadores universales de tipo PCR, los cuales amplifican regiones exónicas e intrónicas de genes ortólogos de copia única para especies de Euasteridos I (Figura 11), a esta segunda generación de marcadores se le denominó COSII. Con estos marcadores se consigue amplificar el ortólogo correspondiente a la especie relacionada.

berenjena. Otra posible causa es el bajo número de marcadores que se usaron para el mapeo. Por este motivo, sería aconsejable que los nuevos mapas de ligamiento se generaran a partir de poblaciones obtenidas por cruces interespecíficos (Doganlar et al., 2002a).

El mapa obtenido por Doganlar se basó en un cruce entre la especie silvestre *S. linnaeanum* (MM195) y la cultivada *S. melongena* (MM738) (Doganlar et al., 2002a). Los marcadores utilizados fueron RFLP, que se agruparon en 12 grupos de ligamiento.

Sunseri utilizó una población segregante de 48 individuos derivada del cruce entre una línea de *S. linnaeanum* resistente al *Verticillium* y *S. melongena* cv. Buia (Sunseri et al., 2003). El mapa se generó a partir de marcadores RAPD y AFLP, de los que se situaron 117 y 156 marcadores respectivamente, agrupados en 12 grupos de ligamiento.

Recientemente, Wu et al. (2008), construyeron un mapa basado en marcadores COSII, tomando como base el mapa de RFLPs de berenjena anteriormente publicado (Doganlar et al., 2002b). El estudio se realizó con 58 individuos F_2 obtenidos del cruce entre *S. linnaeanum* Hepper & Jaeger MM195 y *S. melongena* L. MM378. En el mapa se posicionaron 110 marcadores COSII, 6 de ellos detectables mediante electroforesis en geles de agarosa de los fragmentos amplificados vía PCR y en 104 casos mediante el diseño de CAPs (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) o dCAPs (Derived Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) basados en el análisis de SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) de las secuencias amplificadas de ambos parentales. Son estos últimos marcadores en los que se basa el presente proyecto.

Durante la elaboración del presente trabajo, se publicó un mapa genético en berenjena elaborado con marcadores microsatélites (SSRs), (Nunome et al., 2009). Se genotiparon un total de 94 individuos F_2 del cruce intraespecífico entre las líneas EPL1 y WCGR112-8. El genoma se repartió en 14 grupos de ligamiento, con un total de 959,1 cM y una distancia media entre marcadores de 4,3 cM.

1.13. MAPEO COMPARATIVO

Gracias a la conservación de los genomas a lo largo de la evolución de las especies ha permitido a los investigadores realizar comparativas entre los diversos estudios realizados. El uso de los mismos marcadores moleculares en especies emparentadas como lo son el tomate,

pimiento, patata y berenjena, hace posible extrapolar los datos y conclusiones de un experimento en una especie al resto de las que conforman la familia.

Este es el caso del mapa obtenido por Doganlar et al. (2002b). Para su elaboración utilizó marcadores diseñados a partir de cDNA, ADN genómico y EST que previamente se habían mapeado en tomate, lo que permitió la comparación de la organización del genoma de la berenjena con el de tomate. Llegando a la conclusión de que debido al número de reagrupamientos del genoma, debidos en mayor medida a inversiones y en menor grado a translocaciones, han ido ocurriendo a razón de 0,19 reagrupaciones por cada millón de años. Lo que sugiere que los genomas de Solanáceas, o al menos en el género *Solanum*, presentan un ritmo bajo de evolución respecto a otras especies.

En el caso del estudio comparativo entre QTLs para el tamaño, forma y color del fruto de berenjena con la posición de los loci de patata, tomate y pimiento que controlan dichos caracteres, se revela que el 40% de los loci distintos tienen su ortólogo homólogo en al menos uno de los cultivos mencionados. Además, los resultados indican que la domesticación de las solanáceas se originó a partir de mutaciones en un número bajo de loci que controlan los principales efectos fenotípicos (Doganlar et al. 2002a).

Los marcadores COSII han resultado eficaces para el mapeo comparativo entre especies con amplias distancias filogenéticas. Para comprobarlo, se mapeó tanto tomate como una especie de café diploide (*C. canephora*) con este tipo de marcadores (Wu et al., 2006). Los resultados indicaron que cada fragmento del genoma de café correspondía a un fragmento simple del genoma de tomate (Figura 12).

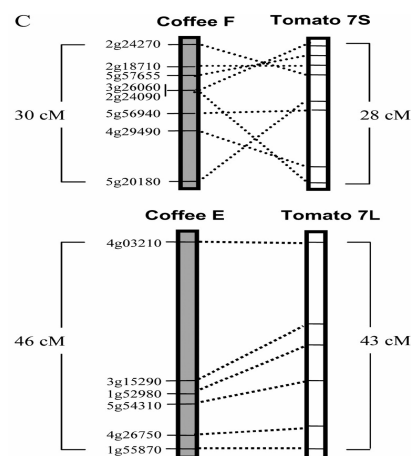


Figura 12. Mapeo comparativo entre tomate y café (Wu et al., 2006)

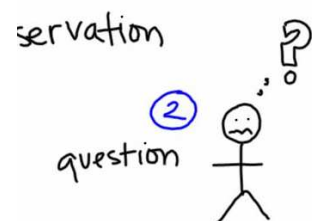
Numerosos de los rasgos morfológicos y agronómicos más interesantes en berenjena están compartidos con tomate, patata y pimiento. En muchos casos, la genética de estos caracteres, está más estudiada en estas últimas especies. Por tanto, obtener un mapa genético de berenjena que pueda ser comparado con el de otras solanáceas podría facilitar los análisis genéticos y estudios de mejora en esta especie. Además, los marcadores más polimórficos servirían para evaluar colecciones de germoplasma (Wu et al., 2008).

El mapa construido por Wu et al. (2008), tomó como referencia el mapa de RFLPs de berenjena ya publicado (Doganlar et al., 2002b). El nuevo mapa situó a lo largo del genoma un total de 110 marcadores COSII. El mapeo de los genomas de berenjena y de tomate permitió realizar una detallada sintenia y avanzar en el estudio de la evolución del genoma de la familia de las solanáceas, identificándose 24 inversiones, 5 translocaciones y 37 segmentos sinténicos conservados (CSS), poniendo de manifiesto que el orden de los genes y marcadores de berenjena y tomate están altamente conservados, lo que permite aplicar las mejoras y nuevos conocimientos sobre el genoma del tomate en berenjena.

A nivel de microsintenia también se ha comprobado la conservación de los genes en la familia de las solanáceas, tanto en posición dentro del genoma como en la dirección de la transcripción de cada uno de ellos. Este estudio se realizó mediante el análisis de CSS a partir de la secuenciación de BACs de tomate, pimiento, berenjena, etc (Wu et al., 2008). Este descubrimiento no sólo permitirá asociar marcadores ligados a genes que se encuentren en tomate o en cualquier solanácea, sino que cualquier nuevo conocimiento relativo a un gen determinado o marcador que se encuentre dentro de él, podrá ser extrapolado a cualquier especie de la familia.

Todo ello supondrá un avance en el estudio de QTLs, a parte de la realización de mapas genéticos de mayor resolución, mediante la generación de nuevas Líneas de Introgresión (ILs). Muchas de las mejoras genéticas de diferentes cultivos se han llevado a cabo con la incorporación de caracteres procedentes de plantas silvestres o exóticas relacionadas con la especie cultivada. Por lo tanto, el desarrollo de ILs y Líneas Quasi-isogénicas (NILs) suponen una herramienta fundamental para la mejora (Zamir, 2001). El estudio de cada uno de los individuos que conforman las ILs permitirá asociar las variaciones, respecto a la especie sin modificar que se observen en cada uno de los individuos estudiados, a la región modificada del genoma. En este caso, la zona modificada puede ser solamente, uno o varios genes en uno o distintos cromosomas.

OBJETIVOS



And if you go chasing rabbits
and you know you're going to fall
Tell 'em a hookah smoking caterpillar
has given you the call
Call Alice, when she was just small

2. OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo son:

1. Caracterización morfológica de individuos *Solanum incanum* (MM577) x *Solanum melongena* (AN-S-26; P4), híbridos F₁ e individuos F₂ generados a partir del cruce interespecífico entre *S. incanum* y *S. melongena*, pertenecientes al Banco de Germoplasma del Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), de la Universidad Politécnica de Valencia.
2. Elaboración de fichas con las características principales de cada individuo de la familia. Estas fichas permiten a técnicos, investigadores y mejoradores el estudio de los caracteres descritos.
3. Caracterización molecular de los individuos F₂ y BC₁ del cruce *S. incanum* x *S. melongena*, mediante el uso de marcadores CAPs diseñados a partir de marcadores COSII.
4. Realización de un mapa de ligamiento valiéndose de la información obtenida del genotipado con marcadores COSII.
5. Mapeo comparativo entre mapas de berenjena y tomate.
6. Estudio de relaciones de sinténicas entre berenjena (*S. incanum* x *S. melongena*) y tomate.

MATERIAL Y MÉTODOS



Please don't spoil my day
I'm miles away
And after all
I'm only sleeping

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

3.1.1. Material vegetal

Para la realización de este ensayo se partió de 32 individuos F₂ obtenidos del cruce de *S. incanum* (MM577) x *S. melongena* (AN-S-26; P4), además de los parentales y el híbrido F₁, pertenecientes al Banco de Germoplasma del Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV) de la Universidad Politécnica de Valencia. Las entradas fueron recolectadas por el propio COMAV.

3.1.2. Descriptores de la caracterización morfológica

Las entradas fueron caracterizadas siguiendo las recomendaciones de la lista de descriptores para la caracterización y evaluación de la berenjena del IPGRI (Internacional Plant Genetic Resources Institute) y los descriptores elaborados por EGGNET (Red Europea de Recursos Genéticos de Berenjena) para la caracterización de berenjena. En general, los caracteres utilizados han sido elegidos por su interés a nivel comercial y agronómico.

Los caracteres evaluados son tanto cuantitativos como cualitativos y están relacionados con la planta, el tipo de flor o inflorescencia y el tipo y tamaño de frutos. Asimismo, se tomaron fotografías de hoja, flor y fruto de cada entrada. A partir de estos caracteres y de las fotografías realizadas se elaboraron fichas descriptivas de cada entrada.

A continuación se muestran los caracteres evaluados y el valor que se le asignó a cada uno de ellos según los descriptores mencionados anteriormente:

3.1.2.1. Caracteres Cualitativos

Caracteres de la Planta	Rango
Hábito de crecimiento	1 – 7; 1 = Postrado, 7 = Erecto
Coloración antociánica del tallo	0 – 9; 0 = Ausente, 9 = Muy fuerte
Coloración antociánica del ápice	0 – 9; 0 = Ausente, 9 = Muy fuerte
Coloración antociánica de la lámina foliar	0 – 9; 0 = Ausente, 9 = Muy fuerte

Caracteres de la Hoja

Rango

Intensidad lóbulo de la hoja

1 – 5; 1 = Muy débil, 5 = Muy fuerte

Caracteres de Flor e Inflorescencia

Color de la corola (Carta colores EGGNET, Figura 13)

3.1.2.2. Caracteres Cuantitativos**Caracteres de la Planta**

Ángulo entre las dos guías principales

Altura de la planta a mitad del cultivo (cm.)

Espinass entre dos nudos del tallo (ud)

Caracteres de la Hoja

Longitud de la lámina foliar (cm.)

Anchura de la lámina foliar (cm.)

Relación anchura / longitud

Longitud del pedicelo (cm.)

Número de espinass foliares. 0 – 9; 0 = Ausentes, 9 = más de 20

Longitud de la espina mayor (cm.)

Caracteres de Flor e Inflorescencia

Diámetro de la flor (mm.)

Exerción del estigma y diferencia entre estigma y anteras (mm.)

Número de flores por inflorescencia

Caracteres del Fruto

Peso (g)

Color principal de la piel (L^* , a^* , b^*)Color secundario de la piel (L^* , a^* , b^*)Color de la pulpa en el momento del corte del fruto (L^*_{0} , a^*_{0} , b^*_{0})Color de la pulpa a los 10 minutos del corte del fruto (L^*_{10} , a^*_{10} , b^*_{10}),Pardeamiento enzimático: ($L^*_{10} - L^*_{0}$, $a^*_{10} - a^*_{0}$, $b^*_{10} - b^*_{0}$)

EGGNET hexadecimal COROLLA COLOR chart (new)
Descriptor site data 23

ffffee = Greenish white (1)

ffffff = White (3)

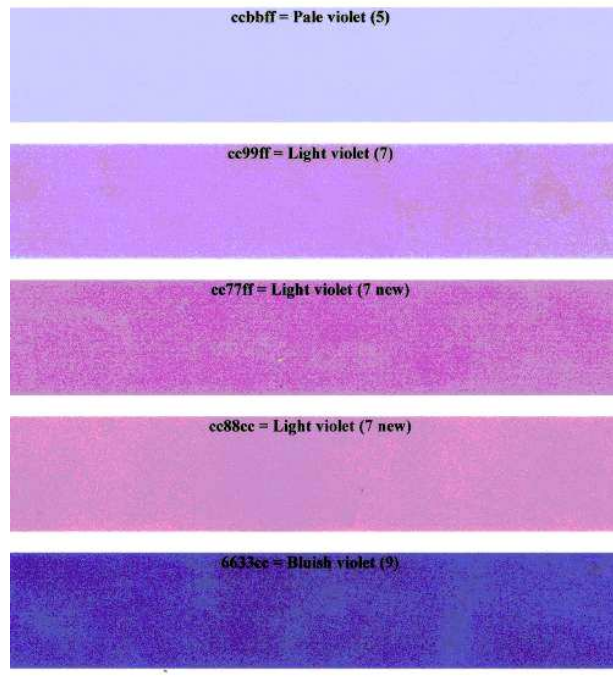


Figura 13. Carta de colores de EGGNET para carácter Color de la Corola.

3.1.3. Condiciones de cultivo

Antes de poner a germinar las semillas utilizadas, se desinfectaron mediante un tratamiento con una solución de lejía al 25% durante 5 minutos. Posteriormente se pusieron a germinar en placas Petri. Para evitar posibles contaminaciones fúngicas se utilizó Tiram a concentración de 2 g/l. A medida que fueron germinando las semillas, se pasaron a las bandejas de alvéolos con sustrato. Los semilleros se dejaron en el invernadero. Se esperó a que las plántulas alcanzaran entre 15 y 20 cm. de altura aproximadamente, para realizar el trasplante a campo.

El seguimiento del cultivo en los invernaderos del C.O.M.A.V. y se llevó a cabo durante los meses de mayo y junio de 2008, tal y como se muestra en la tabla 2:

Tabla 2. Seguimiento del cultivo en el invernadero

INVERNADEROS C.O.M.A.V. SEGUIMIENTO DEL CULTIVO	MAYO-JUNIO 2008	MÓDULO 11 SEMILLEROS	SUPERFICIE (50 m ²)	
CULTIVO Y CONDICIONES SANITARIAS				
Nº DE BANDEJAS	ESTADO SANITARIO	PROCEDENCIA	RESPONSABLE	FECHA SALIDA
8	BUENO	SEMILLA	MANUEL BLASCO	02/06/2008
LABORES DE CULTIVO				
FECHA		LABOR REALIZADA		
01/05/2008		TRATAMIENTO FITOSANITARIO		
1/06/28008		TRATAMIENTO FITOSANITARIO		
TRATAMIENTOS FITOSANITARIOS Y ABONOS FOLIARES				
FECHA	MOTIVO APLICACIÓN (MAQUINARIA USADA)	MATERIA ACTIVA (NOMBRE COMERCIAL)	DOSIS (%)	CALDO GASTADO (L)
01/05/2008	INSECTICIDA (PULVERIZACIÓN LOCALIZADA)	BIFENTRIN 10% (TALSTAR)	0,050	2,00
		IMIDACLOPRID 10% (CONFIDOR)	0,075	
1/06/2008	INSECTICIDA (PULVERIZACIÓN MOCHILA)	BUPROFEZIN 25 % (APPLAUD)	0,080	5,00
		FORMETANATO 50% (DICARZOL)	0,100	

En el invernadero las condiciones ambientales fueron: temperatura entre 15 y 30 °C y 80% de humedad relativa. Para mantener estas condiciones se utilizó un sistema de refrigeración tipo 'cooler'. La calefacción se consigue mediante la utilización de aerotermos, por los cuales circula el agua caliente de un circuito cerrado, alimentado por calderas.

Una vez que las plántulas alcanzaron la altura deseada, se realizó el transplante a una parcela al aire libre en el Campus de Vera, en la Universidad Politécnica de Valencia, durante el día 06/06/2008. La parcela utilizada medía 8 x 25 m, y el marco utilizado fue en líneas de 1 x 0,8 m, con un total de 12 líneas. Previamente al transplante, el campo fue labrado y se hicieron los caballones, luego se pusieron las líneas de goteros para el riego y finalmente un plástico negro con el fin de evitar la aparición de malas hierbas cerca de las plantas, además de facilitar la retención de humedad por parte del suelo.

3.1.4. Manejo del riego

El riego se realizó por goteo. La frecuencia de riego se estimó en función del estado del cultivo y de la temperatura ambiental. Aproximadamente se puede estimar una frecuencia de entre 3 ó 4 días a la semana según el estado de humedad del suelo y del estado fisiológico de la

planta. El riego se realizaba a lo largo del día en 3 ciclos de 10 minutos cada uno y con un caudal de 4 L/h.

3.1.5. Fertilización

El abonado consistió en 36 t/ha de estiércol y 250 kg/ha de un abono complejo 15:15:15 (N: P₂O₅:K₂O). Además, mediante el sistema de riego, se aplicaron 180 kg/ha de nitrato amónico (NH₄NO₃), 120 kg/ha de nitrato potásico (KNO₃) y 90 kg/ha de fosfato amónico (NH₄H₂PO₄).

3.1.6. Poda y entutorado

El sistema de entutorado que se adoptó, fue introducir una caña en el suelo junto a cada planta y rodearlas con hilo de entutorar. Esta labor de cultivo se realizó cuando los frutos empezaron a crecer, debido a que por el peso de los mismos las ramas corrían el riesgo de romperse. En cuanto a las labores de poda, se realizó una foliar cada 15 días aproximadamente.

3.1.7. Tratamientos fitosanitarios

Durante el período de cultivo se realizaron tratamientos para combatir plagas tal y como vemos en la tabla 3:

Tabla 3. Tratamientos realizados durante el ciclo de cultivo

FECHA DE LA APLICACIÓN	PLAGA	PRODUCTO COMERCIAL	MATERIA ACTIVA
02/07/2008	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	MAGISTER	Fenazaquín 10%
	<i>Tetranychus urticae</i>		
16/07/2008	<i>Tetranychus urticae</i>	ABAC	Abamectina 1,8 %
23/07/2008	<i>Tetranychus urticae</i>	NORVAN	Fenbutaestan 2%
06/08/2008	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	TALSTAR	Bifentrin 10%
	<i>Tetranychus urticae</i>		
21/08/2008	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	MAGISTER	Fenazaquín 10%
	<i>Tetranychus urticae</i>		
04/09/2008	<i>Tetranychus urticae</i>	ABAC	Abamectina 1,8 %
17/09/2008	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	TALSTAR	Bifentrin 10%
	<i>Tetranychus urticae</i>		
	<i>Tetranychus urticae</i>		

3.2. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR. GENOTIPADO

3.2.1. Material Vegetal

Para la construcción del mapa genético, mediante marcadores COSII, se genotiparon un total de 94 individuos:

- Parental *S. incanum*
- Parental *S. melongena*
- Híbrido F₁ *S. incanum* x *S. melongena*
- 58 individuos F₂ provenientes de la autofecundación del Híbrido F₁.
- 33 individuos BC₁ provenientes del cruce Híbrido F₁ x Parental *S. melongena*

3.2.2. Extracción de ADN

El ADN genómico se extrajo a partir de una colección de hojas jóvenes de los individuos a estudiar. De cada uno de ellos se tomaron 50-75 ng. de tejido vegetal. El protocolo seguido para la obtención del material genómico fue el método CTAB (Doyle y Doyle, 1987). La cuantificación se realizó con un espectrofotómetro Nanodrop ND-1000 (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE) con el cual se obtuvo la concentración de ADN y las relaciones de absorbancia a 260/280 nm. y 260/230 nm., que indican la calidad del mismo. Para poder analizar la integridad del ADN se realizó una electroforesis en gel de agarosa 0,8%, tinción en bromuro de etidio (BrEt, 0,8 µg/ml) y revelado en un transiluminador (Gel Printerplus) con luz ultravioleta.

3.2.3. Amplificación COSII

Los marcadores COSII (Wu et al., 2008), estudiados en el presente proyecto (Tabla 4), se amplificaron mediante PCR con el objetivo de conocer si obteníamos una única banda de amplificación que nos permitiera la secuenciación de la misma.

Las reacciones se llevaron a cabo en termocicladores Mastercycler ep gradient S (Eppendorf) con un paso inicial de desnaturalización a 94 °C durante 5 min., 35 ciclos a 94 °C durante 30 s, anillado a 55 °C durante 1 min., elongación a 72 °C durante 2 min., y una extensión final de 10 min. a 72 °C. Si no se obtenía amplificado, la temperatura de anillado se bajaba a 50 °C y si las bandas no eran únicas, la temperatura de anillado se aumentaba hasta los 58 °C y los tiempos de anillado y elongación se modificaban a 30 s y 1 min., respectivamente.

El mix de la reacción de PCR consistía en: 1x Buffer PCR, 1,5 mM L⁻¹ MgCl₂, 0,2 mmol L⁻¹ dNTPs, 0,04 unidades de *Taq* ADN polimerasa, 0,25 μmol L⁻¹ Cebador Directo, 0,25 μmol L⁻¹ Cebador Reverso, 10 ng. de ADN y agua MiliQ en un volumen total de 12 μL.

Tabla 4. Lista de marcadores COSII estudiados (Wu et al., 2008).

Marcador	G. L.	Cebador Directo (5' – 3')	Cebador Reverso (5' – 3')
C2At5g51970	1	AAGCTTACACTTGCACATTACCAGA	TCTTCTTGAGAGAATCCAAACCTGTG
C2At1g14810	1	ACATGTATACGTGTTCTCTGTTATGCG	TGGGAATCTATTACTTGCACG
C2At3g06580	1	GCCAAGTTGAAAGGGATAGATGT	AGCAAACCCAGATTTTGGCATAAC
C2At3g23590	1	TCGAAGCTGTCCCTTTGTGGTTG	AGGCTTGGAACATCTACACCAGTGGC
C2At3g12630	1	CAAACAATATGTGTCAAAAAGTGCTTC	AATCATGACGATCGGAGTATCGATGTG
C2At5g13700	1	TCATTCTTCATGATTTTGAAATGGC	AGTCGACTGTCCATAATTTTACCCTC
C2At4g00740	1	TTGGGCTTGAGCTGTGTGATGAATC	TCGCTGGCCATTTTGGAAATTTTCG
C2At5g09580	1	TCAGTCCAAGTTCGCCGCACTTACG	AGCCCGTCAATACACAAGTCTTCAAC
C2At3g18860	1	TTCTTACCGTGAACAAAATTGTGGAG	ACTCTGAAACTTTCTTGAGGATACCATC
C2At3g51510	2	TTGGAATTGTTGCTGCTACTGAAGG	TGATTCGTGTACTCGAAAATAGAACC
C2At3g56210	2	ATGTCTTTGATTAAGAGCAGTAAGG	GGGTAATAATGTTAATATTGTTATTATGT
C2At5g45760	2	TGCACAGTTACAATTACAACAAGGATG	ACATGCGATTTTGGCCGATGTCAAT
C2At2g34560	2	TAAGTGGGAGAGCATTAAAGGATT	TTCTGTTCAGGAGGGCCAA
C2At4g04955	2	TTGCTGTGGGGAACCAAGCAGATATAG	TCCCAGAGAGTCTTGATCCCATGTATGC
C2At1g11380	2	CAACCTGCATTAAGAACAACAAAGTC	TGCCATCTGGACATTGTTTCATCTC
C2At1g11430	2	AGTTCCTAAAGACCTGTCTCTAC	ACTAAAGGCATACATGTTCTTCTTTCG
C2At2g18030	2	TTGGGCGACCACGCTGAATC	TTACCCACATCAGGACCTTGCC
C2At5g67370	2	TGAAACCAGTCATTAATAATGCTGAAG	AGTACTGTCCACCGCCAATGC
T1480	2	ACCACCTGGATGAATACCG	TGCAACAGCTTTTCCCTCTC
C2At3g01480	2	TGTTGAAGACAGGACTCGAGATGCTG	TTGATATTCTCAGTACTTCATATGG
C2At3g26900	2	TACTGAAGCAGTTGTCATCCATGGG	TGGCCTGGCAGCTTCTTCCATC
C2At3g27310	2	AGCCCGAAGACTTCTATGAGTTCAC	TCTGCCTCACGAATTTTCTTCGTC
C2At4g18230	3	AATTGCACATGCGTTGTGGTTAATG	TAGAAAATCGATGACCACCTAATTCCC
C2At1g28530	3	GCTCTTTACATGCCTGCTTTATTTAAT	AGAGATTGCTTTTGACATAGAAATGCTT
C2At1g60440	3	TGCCCGGTCCCTCTTAAGGATG	TCCGCTTGAGCCCAAAACGAAG
C2At1g67700	3	ACAACCTGCAAAAATTATGGTTGCT	GCTGTTTCATTGCCAATTTCTTTAT
C2At1g23890	3	ACCCTTACTCCATCATCCCTGTATCT	TGACTTGCTAATCTTTCTAATTGCAT
C2At5g62390	3	GCTAAGGGCTCTCTTCAACAACCTC	TTGGGGTTCGATAACATCAAGC
C2At1g72030	3	AATTACAGTACATGATTTTCATTCTCAGC	ATCACCTGAAACTACTATATAACCTGCAT
C2At5g23880	3	AGCTAACCTAATCCTTGATACAACACC	TCTATTCTCATTTGTTTCATGTTGAAGGTA
C2At1g51160	3	TCTTCGGAGGATCAGAGATCAGTCC	CATTATGTCTTTGAAATTAGTCATAACCA
C2At5g17170	3	CCTTAGGTCCAAAGCAAGCGGTC	TTGCAGCATTACCGCCATTATCTA
C2At5g41040	3	AGAAGGGGCTGTCTTTGTTGAGGC	GATAATGACACACATGATATAAAGACACAG
C2At3g03100	3	TGTCTTAATCAGTTTGCCTTGATAGAT	TGGAGCCAGCCATGCCATTC
C2At5g60160	3	ACACAATGCTAATCAACGTTATGC	TGACCACTGTGGTGCTCCACATCAG
C2At3g48330	3	TGCCGGTAACAGAAACAAGGGAATG	AATTCCTGACCAAGTCAAACCTAGG
C2At5g49970	3	AGGTAGATTTTAGTAGGGGAAATCC	TCCCACCATGTTACCAGGACCAC
C2At5g08050	3	TGCGATTTACGTTTCTCTGCTTC	TCCCCTACTGGAAATACAGTTGTTG
C2At1g18660	3	ACCCTGTGCTTAAAGTTATTATATGAACC	ACTGTTCCGGCACAATGGACATCTG
C2At1g16080	3	TTTGAAAGGTTAGTTGCACTATTTCAT	ATTGACGCAGTCTCCAGCAGCA
C2At1g79910	3	AATGTTGAAGTATTTGAAGAATGATATAG	CATCCGCAAATCTTGCTGCTG
C2At3g13700	3	TTCCGAGCCCCGAGAATCCTG	ACGCACCTTGAGGGTGTAAATCC
C2At3g20240	3	AGATTGGCAATGCTAGCCTGAGATT	AGCTCCAACCTAGGAGCATCTCTGCAC
C2At3g14075	3	CGATGGATTGCAAGACTTGCAAC	ATTAAGAATATAAAAAATGTAACAGC
C2At3g13235	4	ATTCTGCTGCTGTCAAATGCTTTCG	AGCATATCAAGTCCAAAGAGAAATTC

Marcador	G. L.	Cebador Directo (5' – 3')	Cebador Reverso (5' – 3')
C2At2g46340	4	TGGTCTGTTGATTTTTCTCAAGTGGAAAC	TGTTATCTGTGGATGCAGAAACCAG
U217183	4	GCGAGTTGACACGAAATCTG	CCATAAGACCCCAATCCAAA
C2At1g09920	4	TTTGGGGCGGAGTAATGGCTGT	TCCGGGAGCAGTGAGCAAAATG
C2At1g19340	4	ACCTAAAACGTGCAGTTGAAGAACAGC	ATAAGAAGTATCGGCTAGGCAAAGT
C2At1g47830	4	TTGTGAATAGAGATCCCAAATTCACC	ATAACAATTCATACTCATCCATAACG
T1933	4	AAAGCATCAGCCTTTCGTACA	GAGCATAACAGAACTTTTTATTATGG
C2At2g46580	5	TGCTGGTATTTACTGAAACTTGGG	TCGTGCAGTAGTAAATGCTAGCCTCTC
C2At1g79790	5	ACATGAGATGCTTTGTGCATCGGCG	AGAGTTTTAGCTCGTCTCAATCATC
C2At1g48300	5	TGGGACAGCTTCAACAGCTAAAGG	TACACCCTGAAACTCTGACATTAGGA
C2At5g21170	5	TCCTTCCATCGGGTATATATCATTACAA	ACTGCCACTGGCTCCTTTTCAAATC
C2At2g39690	6	TGGTCTTGAATATCCAGAACCTAATG	AATTCTGAAGCATAAGGTTGAACCTC
C2At3g46780	6	ATGGCTCCAACCTTACTTCAAATTC	TCTGCATCTTGAATGATGATGCAAC
C2At3g11210	6	CTCTACAAAATTGAGAACATCTGCGAA	AATTCTGTTGCCATTGATTCCAGTG
C2At1g21640	6	GGCATCAAAAGCAGCAGTTTTAGAAG	TGCAGAATCTGGAAGTATGACAGG
C2At4g10030	6	TCGCGTCAGCTGCTCTTGATGTC	GGTAGGTATGGAGGCCTACTGATAA
C2At1g20050	6	ATGATCTAAAATTGCCTGGTTTTG	AATAGCCCTCAAGGACCATGTGG
C2At2g18710	7	TAAAAGCACAGCGGCATTCATC	AGAACCAAGAACTGATATCCGGC
C2At4g30580	7	TCAGCCGGTGCTGCTTATCCAC	TGATGAACTTGAAGTTTCTCCAAGAG
C2At5g56940	7	TTATGCTATTTTTCATTTGAAAATTAAT	TACTTCAACCTATCAAAAATTAAGACC
C2At2g42750	7	AAGAAGGCATACTATAGTTGCATGAA	ACTCTAGCTCTTCCAAAAGTCTTCCTC
C2At5g48300	7	ATAAAGTATATAAAACCATTATGTATGGTA	AAGGTCAGGCAGACGCTACAAC
C2At1g53670	7	AAGGTACAGAACGGGCATTCAC	TGTTCCAGGGGCTTACTGTTCCAG
C2At1g55870	7	AAGTTCGCCGTCGTTTCAGTTCCG	ATTGGTTGCTACCAGGAATTTCTTG
C2At1g55670	7	AACAAACCAATCTCCTTCAAACCCAG	TCATATCCATTGTAGAAGTAGCAAG
C2At5g56130	7	CTTCGCTCTTTTCTACTGCATGAAT	TAGGTTTAAACTTGCGAACATCC
C2At1g56050	7	TCTCCTAGGGTTGCGTACATACTTAC	TGCCCTGATGAAGCCCTTTTCAAAGTC
T0463	7	CCAAGGCAAAAGGAGTCAGTC	GAACCAAAGTTGTCGCTGTCTAT
C2At1g29320	8	ACTTTCTTATGCAAAAGATGATCACCG	GATAGGCTGGTCAACGTCATTTCA
C2At5g45680	8	AGTAATATACTATGTTTCTTCTGGAAGC	ACCTCTAGAATTCCCTGATCCC
C2At1g18480	8	ACAAACAATCTTCCCTTCTCCTACTCG	AATAGGCCCTTTTGGCCTTAATGC
C2At1g30360	8	TTGAACTGAGTTCGGCATGGATCAGC	AAGCCTCCTTATCTCAGCTTCAG
C2At5g11490	8	ATGGAGCCATGATTGTATAGCAGTTG	AAGTCATTCAGTACTGATCAGCA
C2At5g47010	8	ACCGCAGGCTTTTCTTTGGTGG	TGGATGGACGAGGTGCCATGTAAG
C2At1g10580	8	AATGGGATATAAACAGTGGACAGATGA	AGAAGACAAACCTCCATCAGGTGAGAA
C2At5g41270	8	CTCATGGAATTGTCAGTGTGCTCTCC	GCCTTTCTTTTGTCTTCTCAATCC
C2At5g41350	8	TGAACTTGAGAAGTCTGAGGAACTCG	ATGAAACTGATGCTCGCATTTTG
C2At4g23840	8	AGGGGAGAGAGTTATGTGGATGCAG	ACCATCAGCTGTGACACCTGTTTCTG
C2At3g09920	9	AAGCAATCATAAAGGGTCACAGGAG	AGACCATTGGGCAATAATCTTTCC
C2At2g37240	9	GCAGTGCTATCATAATGTGCATATCTT	ACAAGTGCAGCTCCTGCTGCATCC
C2At2g37500	9	TGTTTAGAATTCTTACCTCCTTTGCCG	AGCACTCAATTACATCTTGATAACCTGC
C2At5g58410	9	TCTTACCCTCTGCGACCTGTGGATG	TTTGCAGGTTTTGCAAGCTAGCCGCCG
C2At3g63190	9	TTGGTGCAGCCGTATGACAAATCC	TCCATCATTATTTGGCGTCATACC
C2At1g07310	9	AGAAAACCTACGATCTCGAAATCACC	AAACTGCCATAGCTAGATTGCCG
C2At1g04530	9	TAGCCCTCCCTTACATCTTGCAGC	TTGTGGAGAAGCTTGTACTGCCCTC
T1065	9	GACGGTGAAGGGTACCAAGA	CAGGAGTGCATGGGTAGGTT
C2At1g30110	10	AATGTACCCGGAGCATGGCAAATG	TGGGAAGTCATACGTCACCAATTG
C2At1g25375	10	AACATACAAATTCATTGAGCTCTCTCC	ATTAGATGTGCATCAGTGGATTCTCTC
C2At3g25690	10	TGAAGTTGAAGAGCTAGTGTATCTGCG	TTCCAAAACCTAGTATGGCTACACCG
C2At4g28830	10	ATTTGAGGATGTGAACAGTAAGGTGG	GTGTTCCAAAAGGTGGATTATAAC
C2At4g03280	10	TGACTCGTTGAAATCAATCATTCTCG	ATCTTTGGCAGGGGTACCACCAC
C2At4g11120	10	TGGAGTTAGTGGCTAGGCTGGA	TGAAGTCTTCGCCAACTTCC
C2At4g18593	10	AGGTGATTGTTATAATCGTGGAGAAAG	GCACTCTTTAGCAAACCTTTGGTCTGA
C2At1g64770	10	TCCGGAGCTGTACTTATTGCACACATC	AGCCCAAACGTATTATCTTAAAGAAGAG

Marcador	G. L.	Cebador Directo (5' – 3')	Cebador Reverso (5' – 3')
C2At1g24340	10	ACAAATATTTGAAGAAGGACAGAGCCT	ACGTCATCTTCAGACACCAATACTCCTTT
C2At1g26945	10	ATCGCTGATCTTGTTCCTCAAGTTGC	AATAGCAGCTTGAGCACTATCACTATC
C2At1g69420	10	TCATTGCTCTCAGAGATCAAGAGCAAC	TGGTTTCAAAGGGTAACTCTGCAGG
C2At4g24830	10	TGATGTTGCCAGAGAGGTTGGAGC	TCAGAGCAAAGAATGTCAGCTCAA
C2At1g26520	10	ACTGTGAAGCATAGTTTGGTTCAAGC	TTTGTGTTATAGGCAAGTTGTCAGAT
C2At3g08760	10	TCTCCAGAACGTTGTGTGCAGAAGG	TCCTCATGTAGAAATGTAAGACCTTG
C2At3g57270	10	AGAATGAGAATCTATGATCCTCATCAACC	TGTTTGGTGTAACAGTCCAAAATG
C2At4g22260	11	CACGTTGAGCAATGCATCAGCATT	AGGAACTTTGCAATTGTTTCCAGAAC
C2At3g52640	11	TACCTTGGCAGTAGAAGATTTCTTCTTG	AACCCTTTCCAAGTATCCAATTTT
C2At5g16630	11	TAAATGCAATCACTGATGGAGAGCA	TGCCAATACTGCATCCCAACAAAT
C2At3g54840	11	CAACTACAGTTAAATTTGAAATATGGGC	TGTGCTTTGGCAAAGACTCAGGAC
C2At4g15010	11	ATAGGTATGCTTCAATTCTTATGCTA	GGAAAAGATTGTCATCCAAGCATGAG
C2At5g64730	11	TGAAGTCCGCGATGCCATGTCAC	ACATGAACAAAGTTTTGAATTGTCC
C2At3g62940	11	ACCTGTGATAAGTAATCATGTTTACCG	TCTGCTCTCTGGCTGCCTCTTGTG
C2At1g05055	11	CTTGAACCTTATACAAGTTTTGAGTTAC	AATGCAACAAAATACATTCCACCAG
C2At4g39870	11	TGATGGAAGTAATTCTAAAGTTTCCG	TTCTATTCCACATACAAGCAAGCCT
C2At2g01770	11	CAGAAGAAATCATGAGTTTGGGAAGC	ATAAGTGCTGTTTAAAAAGCACTCC
C2At3g51010	11	TCCAAAACAATCCCAATGAAGGAAG	ACGCTTACTCGCTTAATCATTTTT
C2At2g45620	11	AAGGATGTTCAAGGAATGCCTGG	CATATGTCGCAAGATATCCAGTT
C2At2g39580	11	AGATAACTGGTTTACGGAAGTTCCTGG	TGAAGCTTCTACCCATACATATTCTGG
C2At5g57970	12	TCAAAGAAAAGATGTGCCTGGGTG	TGCCCCGCAAAGGACAAGGAG
C2At1g33970	12	TTCAAATAACAACAGCATACCTAGTGA	TCGTTTCCAACAAATTCAGGTTTTCAG
C2At5g59960	12	TCCGATACTCATCAGCTCTTGTT	ACGCCTGTGTTTGTGTTGGATGTC
C2At2g28490	12	ACGGAGTATTCTCCATTGAAACACTCTG	ATTGAATTCTGACCCACCAAGAAGT
C2At5g60600	12	TCTCAATGAAAGCTAGCAATCCAG	CAAATAACGTCTGTGCTTTTCTTC

El producto de la PCR se analizó mediante electroforesis en gel de agarosa 1,5%, tinción en bromuro de etidio y revelado con luz ultravioleta.

3.2.4. Secuenciación y búsqueda de SNPs

Se trataron 7 µl del producto de la PCR con 0,1 µl de Exonucleasa I (10 U/ µl), 2,5 µl de tampón recomendado por el fabricante (10X) y agua MiliQ, hasta un volumen final de 25 µl e incubando durante 1 h. a 37°C. Después se procedía a inactivar la enzima calentándola a 80 °C durante 20 min.

A continuación se inició la precipitación del ADN usando 2,6 µl de acetato de sodio 3 M y 75 µl de etanol absoluto, dejándose durante 30 min. a 4°C. Se centrifugó a 3000 rpm a -4 °C durante 30 min y se eliminó el sobrenadante. Seguidamente se añadieron 100 µl de etanol al 70% y se centrifugó de nuevo a 3000 rpm a -4 °C durante 15 min. El precipitado se resuspendió con 12 µl de agua MiliQ. Posteriormente se cuantificó utilizando el Nanodrop ND-1000.

La reacción de secuenciación se realizó usando 57 ng de ADN, cebador directo del marcador correspondiente (3,2 µM), mix de secuenciación (1 µl) (BigDye Terminador v3.1

Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems) y 1 μ l de tampón recomendado por el fabricante, en un volumen final de 10 μ l. Se llevó a cabo en un termociclador Mastercycler ep gradient S (Eppendorf) usando las siguientes condiciones: 1 ciclo de 96°C durante 1 min., 25 ciclos de 96°C 10 s /55°C 5 s /60°C 4 min., y un paso final de 4°C durante 7 min.

Posteriormente se volvió a precipitar el producto de secuenciación con 1 μ l de EDTA 0,125 M y 1 μ l de acetato de sodio 3 M, añadiendo posteriormente 29 μ l de etanol absoluto y dejando incubar a 4°C durante 30 min. Se centrifugó y eliminó el sobrenadante. Seguidamente se lavó con etanol (70%). El ADN se resuspendió en 10 μ l de formamida, se desnaturizó a 95°C durante 5 min. y se colocó en hielo inmediatamente. Para terminar, las muestras se analizaron en un secuenciador (ABI 3100, Applied Biosystems). Las secuencias obtenidas se examinaron con el software informático Sequence Scanner v1.0 (Applied Biosystems) (Figura 14).

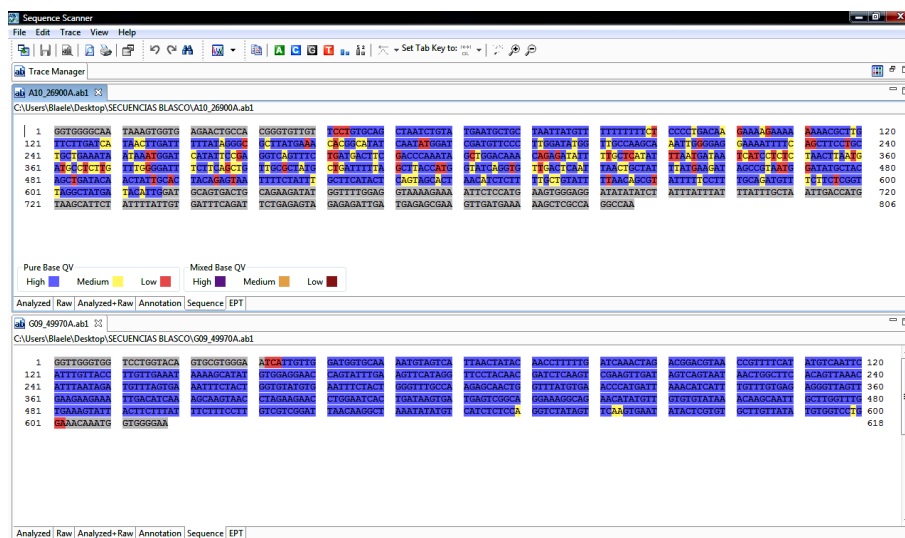


Figura 14. Secuenciación de baja (arriba) y alta (abajo) confianza obtenida mediante el software informático Sequence Scanner v1.0 (Applied Biosystems).

3.2.5. Búsqueda de CAPs y diseño de dCAPs

Las secuencias que resultaron tener la calidad suficiente fueron analizadas mediante el programa informático CAPs Designer (Mueller et al., 2005, http://solgenomics.net/tools/caps_designer/caps_input.pl). Esta aplicación alinea las secuencias introducidas, en este caso las de ambos parentales, en busca de SNPs. En caso afirmativo, comprueba si en el lugar donde se halla el cambio de base existe un sitio de restricción para una de las 2 secuencias (Figura 15). Con esto se consigue fragmentar una de las dos bandas, cambiando por tanto su tamaño, y haciéndola así distinguible de la del otro parental. Finalmente se comprobó que el SNP se encontrase en una zona secuenciada con un rango de confianza alto.

Query Summary			
Aligned Sequences	Incanum, Melongena		
Alignment Length(w/ gaps)	573 bp	Search Range	bp 21 - 553
Cutting Sites Limit	4		
Enzyme Selection	All		

CAPS Candidates			
Enzyme	CviII	Price	over \$65/1000u
Recognition Sequence	[A]G]GC[C]T		
Incanum Current Site(s)	195 497	Incanum Fragments(s),bp	195 302 76
Melongena Current Site(s)	497	Melongena Fragments(s),bp	497 76
CAPS Site	195	Incanum taataactGGCTtcacagtt Melongena taataactGGTtcacagtt	

Enzyme	MaeIII	Price	over \$65/1000u
Recognition Sequence	GT.AC		
Incanum Current Site(s)	65 93 354	Incanum Fragments(s),bp	65 28 261 219
Melongena Current Site(s)	65 93 354 507	Melongena Fragments(s),bp	65 28 261 153 66
CAPS Site	507	Incanum ctaaatatGTCATctctc Melongena ctaaatatGTCACctctc	

Figura 15. Ejemplo de búsqueda de marcadores CAPs mediante el programa CAPs Designer

Cuando las secuencias presentaron SNPs pero no existía una enzima que cortase en una de las dos bandas, se diseñaron dCAPS mediante el programa dCAPS Finder 2.0 (Neff MM et al., 2002), que aprovechando el SNP y una mutación que se introduce modificando el cebador, genera un sitio de restricción en una de las secuencias.

3.2.6. Aplicación de CAPs y dCAPS a la generación segregante

Una vez diseñados los CAPs y dCAPs, se procedió a realizar una reacción PCR de toda la familia objeto de estudio. El mix de la reacción de PCR consistía en: 1x Buffer PCR, 1,5 mM L⁻¹ MgCl₂, 0,2 mmol L⁻¹ dNTPs, 0,04 unidades de *Taq* ADN polimerasa, 0,25 μmol L⁻¹ Cebador Directo, 0,25 μmol L⁻¹ cebador reverso, 10 ng de ADN y agua MiliQ en un volumen total de 20 μL. El protocolo de PCR fue el mismo que se usó en el apartado 3.2.3. A continuación se comprobó la amplificación de ADN mediante electroforesis en gel de agarosa a concentraciones variables del 0,8 hasta el 3%, dependiendo de la longitud esperada de las bandas.

Posteriormente se digirieron los fragmentos amplificados con la enzima necesaria en cada caso. El mix de la digestión consistió en: 7 μL de producto de PCR, 3 μL de enzima (10U), 10 μL de tampón recomendado por el fabricante (10X), en un volumen total de 20 μL y se incubó toda la noche a la temperatura de digestión de cada enzima. Como paso final, se comprobó el resultado de la digestión y genotipado de la población en gel de agarosa a concentraciones variables del 0,8 hasta el 3%, dependiendo de la longitud esperada de las bandas.

En la figura 16 se presenta un diagrama de flujo explicativo de los pasos seguidos en el proceso de genotipado de la población segregante.

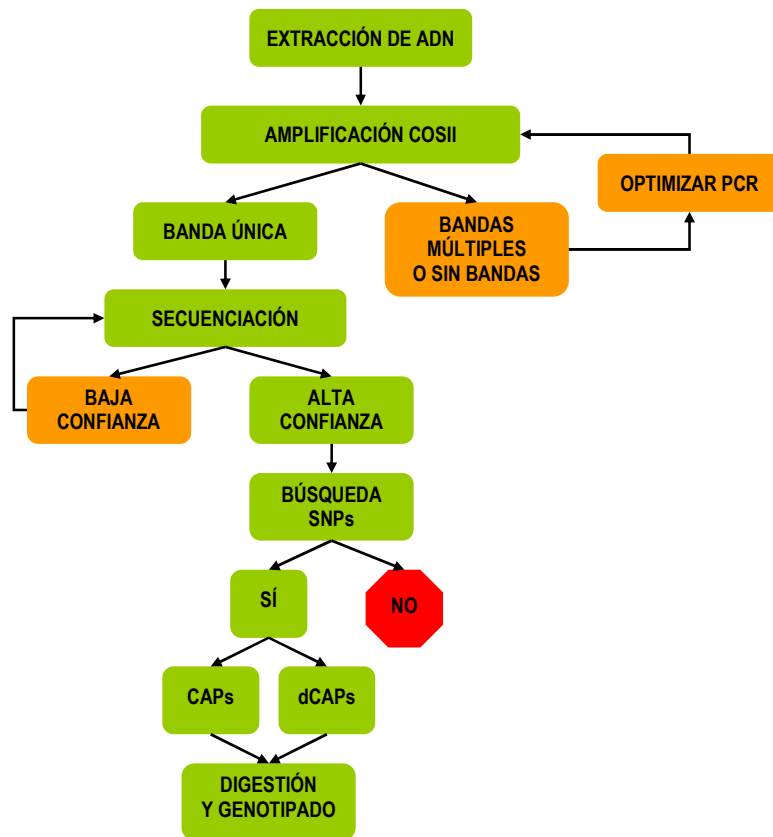


Figura 16. Diagrama de flujo desde extracción de ADN hasta Genotipado

3.2.7. Construcción del mapa de ligamiento

El mapa se realizó mediante el programa Joinmap 3.0 (Stam, 1993). Los individuos se genotiparon como A (si eran homocigotos para *S. incanum*), como B (si eran homocigotos para *S. melongena*) o H (si eran híbridos). En caso de dominancia se codificaron como C (que indicaba B o H) o D (que indicaba A o H). Se generaron dos mapas, uno correspondiente a la familia F_2 y otro al retrocruce (BC_1). Para ello se agruparon los marcadores a un $LOD \geq 3$ y las frecuencias de recombinación se transformaron en distancias genéticas mediante la función de mapa de Kosambi. Finalmente se obtuvo un único mapa consenso mediante la opción 'Combine Groups for Map Integration'.

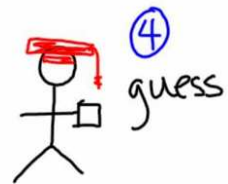
3.2.8. Mapeo comparativo y relaciones sinténicas

Para realizar el mapeo comparativo entre el mapa realizado y el de berenjena y tomate de Fulton et al. (2002), se buscó la posición de los marcadores COSII en cada uno de ellos. Una

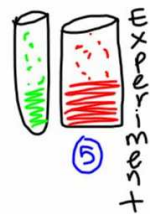
vez conocida la posición de cada uno de ellos en el genoma, se realizaron puentes entre los mismos marcadores de los distintos mapas.

Las relaciones sinténicas se obtuvieron mediante análisis BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Se compararon las secuencias obtenidas a partir de la secuenciación del producto de la amplificación de los marcadores COSII mapeados con los BACs (Bacterial Artificial Chromosome) secuenciados de tomate existentes en la base de datos de SOL Genomics Network.

RESULTADOS



Take a look at the Lawman
Beating up the wrong guy
Oh man! Wonder if he'll ever know
He's in the best selling show
Is there life on Mars?



You see I've been through the desert on a horse with no name
It felt good to be out of the rain
In the desert you can't remember your name
'Cause there ain't no one for to give you no pain

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS MATERIALES

A este trabajo se le ha pretendido dar una visión práctica en lo que respecta a la descripción del material vegetal utilizado para la caracterización, de manera que las descripciones se ajusten a las características más interesantes a nivel morfológico y agronómico, como son el peso del fruto, la presencia de antocianinas en distintas partes de la planta, nivel de espinosidad, ángulo de la guía principal, diámetro de la corola y exención del estigma. Para sistematizar esta descripción se ha optado por la siguiente ordenación en tipos, considerando los 4 grupos.

Grupos considerados:

- Parental 1: *S. incanum* (MM577)
- Parental 2: *S. melongena* (A.N-S-26; P4)
- Híbrido F₁ *S. melongena* x *S. incanum*
- F₂ *S. melongena* x *S. incanum*

4.1.1. Fichas de los materiales caracterizados

Entrada: P₁**Tipo:** *S. incanum* (MM577)**Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Ausente**Antocianos tallo:** Ausente**Altura (cm.):** 117**Ángulo guía ppal:** 100°**Espinas entre nudos:** 7**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 19,3**Anchura lámina (cm.):** 13,5**Relación L/A:** 0,67**Longitud pedicelo (cm.):** 4,05**Lobulado hoja:** Débil- intermedio**Antocianos lámina foliar:** Ausente**Espinas foliares:** 8**Color espinas:** Verde**Longitud espina mayor (mm):** 4Figura 17. Hoja e inflorescencia de P₁**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 6**Color corola:** cc77ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 3,3**Exerción del estigma (mm):** 7**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 6,05**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

51,82; -15,88; +21,18

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

72,88; -10,83; +21,30

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

70,95; -5,51; +29,38

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

49,52; +6,41; +26,91

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀**- a*₀; b*₁₀ - b*₀):**

-21,43; 11,92; -2,47

Figura 18. Fruto de P₁

Entrada: P₂**Tipo:** *S. melongena* (AN-S-26; P4)**Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Fuerte
Antocianos tallo: Fuerte

Altura (cm.): 131,5
Ángulo guía ppal: 70°
Espinas entre nudos: 0

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 18,55
Anchura lámina (cm.): 14
Relación L/A: 0,75
Longitud pedicelo (cm.): 9,5
Lobulado hoja: Débil- intermedio

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 0
Color espinas: -
Longitud espina mayor (mm): -

Figura 19. Hoja e inflorescencia de P₂**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 4
Color corola: cchhff

Diámetro corola flor principal (cm.): 5
Exerción del estigma (mm): Inserto

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 190

Color de la pulpa en el momento del corte
(L*₀; a*₀; b*₀):
 81,55; -3,13; +16,97

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 23,77; +6,56; +2,16

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte
(L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 78,88; -3,89; +17,92

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 38,95; -4,58; +15,86

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -2,67; -0,76; 0,95

Figura 20. Fruto de P₂

Entrada: F₁**Tipo:** Híbrido F₁ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

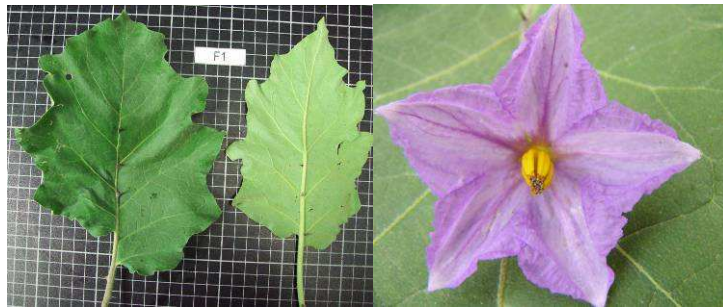
Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Intermedio
Antocianos tallo: Débil-intermedia

Altura (cm.): 173,5
Ángulo guía ppal: Entre 60° y 90°
Espinas entre nudos: 11

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 18,55
Anchura lámina (cm.): 14,2
Relación L/A: 0,67
Longitud pedicelo (cm.): 6,95
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 8
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 9

Figura 21. Hoja y flor de F₁**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 6
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,8
Exerción del estigma (mm): 7

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 15,1

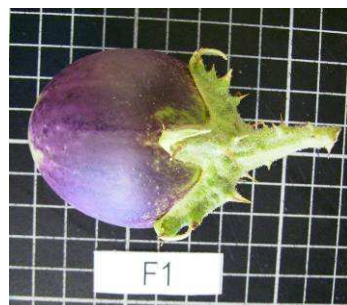
Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 86,16; -3,21; +22,37

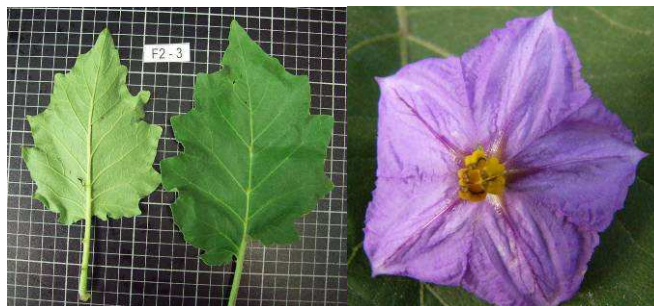
Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 27,05; +6,54; +1,74

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 56,65; +7,05; +30,04

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 62,87; -8,23; +21,01

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -29,51; 10,26; 7,67

Figura 22. Fruto de F₁

Entrada: F₂ - 3**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Ausente**Antocianos tallo:** Muy débil**Altura (cm.):** 130**Ángulo guía ppal:** 50°**Espinas entre nudos:** 10**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 21,5**Anchura lámina (cm.):** 16,7**Relación L/A:** 0,78**Longitud pedicelo (cm.):** 7,8**Lobulado hoja:** Intermedio - fuerte**Antocianos lámina foliar:** Muy débil**Espinas foliares:** 8**Color espinas:** Verde**Longitud espina mayor (mm):** 7Figura 23. Hoja y flor de F₂ - 1**Inflorescencia****N° flores por inflorescencia:** 4**Color corola:** cc99ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 4,7**Exerción del estigma (mm):** 7**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** -**Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):**
-**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**
-**Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):**
-**Color secundario de la piel (L*; a*; b*):**
-**Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):**
-

Entrada: F₂ - 4Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Muy fuerte
Antocianos tallo: Intermedia

Altura (cm.): 155
Ángulo guía ppal: 75°
Espinas entre nudos: 0

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 19,9
Anchura lámina (cm.): 12,7
Relación L/A: 0,64
Longitud pedicelo (cm.): 8,4
Lobulado hoja: Débil- intermedio

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 0
Color espinas: -
Longitud espina mayor (mm): -

Figura 24. Hoja e inflorescencia de F₂ - 4**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 3
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 5,5
Exerción del estigma (mm): 3

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 62,5

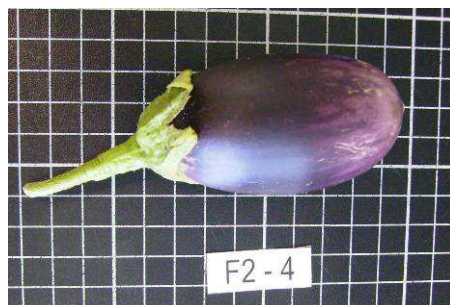
Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 88,52; -2,41; +13,13

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 27,31; +5,97; +1,58

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 67,70; +3,49; +31,34

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 40,75; +16,90; +2,97

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -20,82; 5,90; 18,21

Figura 25. Fruto de F₂ - 4

Entrada: F₂ - 16Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Intermedio
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 150
Ángulo guía ppal: 80°
Espinas entre nudos: 4

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 19,0
Anchura lámina (cm.): 11,7
Relación L/A: 0,62
Longitud pedicelo (cm.): 6,3
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Intermedio
Espinas foliares: 8
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 8

Figura 26. Hoja y flor de F₂ - 16**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 5
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,8
Exerción del estigma (mm): 4

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 29,0

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 85,38; -3,13 ; +20,98

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 36,98; +23,54; -13,05

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 85,03; -0,72; +20,75

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -0,35; 2,41; -0,23

Figura 27. Fruto de F₂ - 16

Entrada: F₂ - 17Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Fuerte
Antocianos tallo: Fuerte

Altura (cm.): 163
Ángulo guía ppal: 70°
Espinas entre nudos: 7

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 16,6
Anchura lámina (cm.): 13,2
Relación L/A: 0,80
Longitud pedicelo (cm.): 6,2
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Intermedio
Espinas foliares: 4
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 8

Figura 28. Hoja e inflorescencia de F₂ - 17**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 5
Color corola: 6633cc

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,8
Exerción del estigma (mm): 7

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 32,5

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 80,76; -4,12; +24,40

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 24,71; +5,24; +1,51

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 59,29; +3,56; +30,60

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -21,47; 7,68; 6,20

Figura 29. Fruto de F₂ - 17

Entrada: F₂ - 26Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

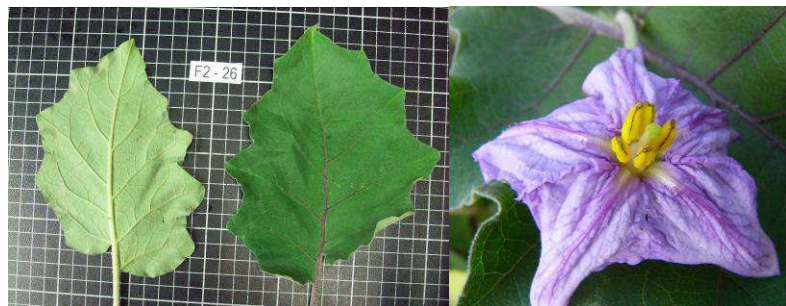
Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Muy fuerte
Antocianos tallo: Muy fuerte

Altura (cm.): 106
Ángulo guía ppal: 95°
Espinas entre nudos: 8

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 20,7
Anchura lámina (cm.): 14,9
Relación L/A: 0,72
Longitud pedicelo (cm.): 9,2
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Muy fuerte
Espinas foliares: 4
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 2

Figura 30. Hoja y flor de F₂ - 26**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 5
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,4
Exerción del estigma (mm): 2

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 33,1

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 86,19; -2,08; +16,29

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 38,60; +20,57; -4,67

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 84,17; -0,92; +15,77

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 71,81; +8,74; +6,26

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -2,02; 1,16; -0,52

Figura 31. Fruto de F₂ - 26

Entrada: F₂ - 30**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Ausente
Antocianos tallo: Ausente

Altura (cm.): 105
Ángulo guía ppal: 55°
Espinas entre nudos: 8

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 23,5
Anchura lámina (cm.): 16,1
Relación L/A: 0,68
Longitud pedicelo (cm.): 5,4
Lobulado hoja: Débil - intermedio

Antocianos lámina foliar: Ausente
Espinas foliares: 4
Color espinas: Verde
Longitud espina mayor (mm): 4

Figura 32. Hoja y flor de F₂ - 30**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 7
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 3,3
Exerción del estigma (mm): 4

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 45,0

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 80; + 3,45; - 3,12

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 69,25; -0,06; +12,97

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 -

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 69,25; -0,06; +12,97

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -17,49; 7,49; 10,19

Figura 33. Fruto de F₂ - 30

Entrada: F₂ - 34Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
 Antocianos en ápice: Ausente
 Antocianos tallo: Débil

Altura (cm.): 100
 Ángulo guía ppal: 60°
 Espinas entre nudos: 6

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 18,0
 Anchura lámina (cm.): 12,3
 Relación L/A: 0,68
 Longitud pedicelo (cm.): 6,7
 Lobulado hoja: Intermedio

Antocianos lámina foliar: Débil
 Espinas foliares: 8
 Color espinas: Verde
 Longitud espina mayor (mm): 7

Figura 34. Hoja y flor de F₂ - 34**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 4
 Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,3
 Ejerción del estigma (mm): 6

Fruto:

Peso medio del fruto (g): -

Color de la pulpa en el momento del corte
 (L*₀; a*₀; b*₀):

-

Color principal de la piel (L*; a*; b*):

-

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte
 (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

-

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):

-

Entrada: F₂ - 43Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Fuerte
Antocianos tallo: Fuerte

Altura (cm.): 172
Ángulo guía ppal: 80°
Espinas entre nudos: 0

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 17,1
Anchura lámina (cm.): 12,4
Relación L/A: 0,73
Longitud pedicelo (cm.): 7,0
Lobulado hoja: Débil - intermedio

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 0
Color espinas: -
Longitud espina mayor (mm): -

Figura 35. Hoja y flor de F₂ - 43**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 3
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,8
Exerción del estigma (mm): 4

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 107,0

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 85,99; -6,40; +17,14

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 65,11; +4,71; +9,10

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 86,06; -3,80; +15,38

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 0,07; 2,60; -1,76

Figura 36. Fruto de F₂ - 30

Entrada: F₂ - 47Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Débil**Antocianos tallo:** Débil**Altura (cm.):** 108**Ángulo guía ppal:** 80°**Espinas entre nudos:** 12**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 19,0**Anchura lámina (cm.):** 13,6**Relación L/A:** 0,72**Longitud pedicelo (cm.):** 5,8**Lobulado hoja:** Fuerte**Antocianos lámina foliar:** Débil**Espinas foliares:** 4**Color espinas:** Verde**Longitud espina mayor (mm):** 6Figura 37. Hoja y flor de F₂ - 47**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 4**Color corola:** cc99ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 5,3**Exerción del estigma (mm):** 7**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 25,0**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

85,90; -1,71; +17,69

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

86,60; -3,15; +17,86

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

68,16; +3,37; +27,70

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):

-18,64; 6,52; 9,84

Figura 38. Fruto de F₂ - 47

Entrada: F₂ - 49**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Fuerte
Antocianos tallo: Fuerte

Altura (cm.): 100
Ángulo guía ppal: 85°
Espinas entre nudos: 9

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 19,4
Anchura lámina (cm.): 11,7
Relación L/A: 0,6
Longitud pedicelo (cm.): 8,2
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 2
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 3

Figura 39. Hoja y flor de F₂ - 49**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 4
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,8
Exerción del estigma (mm): 4

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 14,0

Color de la pulpa en el momento del corte
(L*₀; a*₀; b*₀):
 64,24; +6,15; +20,20

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 43,54; +12,71; -2,03

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte
(L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 53,78; +7,49; +27,09

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -10,46; 1,34; 6,89

Figura 40. Fruto de F₂ - 49

Entrada: F₂ - 54Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Fuerte
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 84
Ángulo guía ppal: 70°
Espinas entre nudos: 8

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 19,3
Anchura lámina (cm.): 13,9
Relación L/A: 0,72
Longitud pedicelo (cm.): 6,0
Lobulado hoja: Intermedio

Antocianos lámina foliar: Intermedio
Espinas foliares: 4
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 8

Figura 41. Hoja y flor de F₂ - 47**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 3
Color corola: cc99ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 3,8
Exerción del estigma (mm): 8

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 14,0

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 70,97; +2,51; +21,94

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 33,97; +8,26; +1,77

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 62,41; +4,64; +30,39

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -8,56; 2,13; 8,45

Figura 42. Fruto de F₂ - 54

Entrada: F₂ - 61**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Fuerte
Antocianos tallo: Fuerte

Altura (cm.): 111
Ángulo guía ppal: 90°
Espinas entre nudos: 8

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 21,8
Anchura lámina (cm.): 11,6
Relación L/A: 0,53
Longitud pedicelo (cm.): 5,8
Lobulado hoja: Débil - intermedio

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 8
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 9

Figura 43. Hoja e inflorescencia de F₂ - 61**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 4
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,9
Exerción del estigma (mm): 4

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 49,0

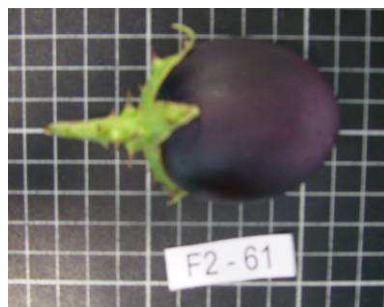
Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 83,98; -2,06; +14,41

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 21,59; +2,75; +1,00

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 62,99; +3,99; +20,64

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 48,76; +8,66; +7,93

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -20,99; 6,05; 6,23

Figura 44. Fruto de F₂ - 61

Entrada: F₂ - 62Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Fuerte
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 126
Ángulo guía ppal: 95°
Espinas entre nudos: 9

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 22,4
Anchura lámina (cm.): 14,8
Relación L/A: 0,66
Longitud pedicelo (cm.): 8,2
Lobulado hoja: Fuerte

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 8
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 7

Figura 45. Hoja e inflorescencia de F₂ - 62**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 4
Color corola: cc99ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,4
Exerción del estigma (mm): 4

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 84,0

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 80,22; +0,83; +18,32

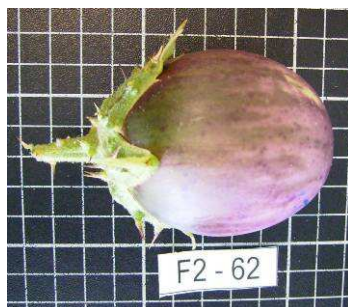
Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 43,93; +7,26; +7,74

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 72,65; +1,89; +23,96

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -7,57; 1,06; 5,64

Figura 46. Fruto de F₂ - 62

Entrada: F₂ - 63Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Intermedio
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 137
Ángulo guía ppal: 70°
Espinas entre nudos: 10

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 16,8
Anchura lámina (cm.): 11,7
Relación L/A: 0,70
Longitud pedicelo (cm.): 5,7
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Intermedio
Espinas foliares: 8
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 6

Figura 47. Hoja y flor de F₂ - 63**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 5
Color corola: 6633cc

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,6
Exerción del estigma (mm): 8

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 31,0

Color de la pulpa en el momento del corte
(L*₀; a*₀; b*₀):
 80,74; -3,82; +19,26

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 21,70; +1,28; +0,48

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte
(L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 57,27; +4,22; +19,62

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -23,47; 8,04; 0,36

Figura 48. Fruto de F₂ - 63

Entrada: F₂ - 71Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Muy fuerte
Antocianos tallo: Fuerte

Altura (cm.): 104
Ángulo guía ppal: 50°
Espinas entre nudos: 8

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 15,3
Anchura lámina (cm.): 11,8
Relación L/A: 0,77
Longitud pedicelo (cm.): 10,0
Lobulado hoja: Débil

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 4
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 4

Figura 49. Hoja y flor de F₂ - 71**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 4
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 3,4
Exerción del estigma (mm): 2

Fruto:

Peso medio del fruto (g): -

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 -

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 -

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 -

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 -

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -

Entrada: F₂ - 81Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

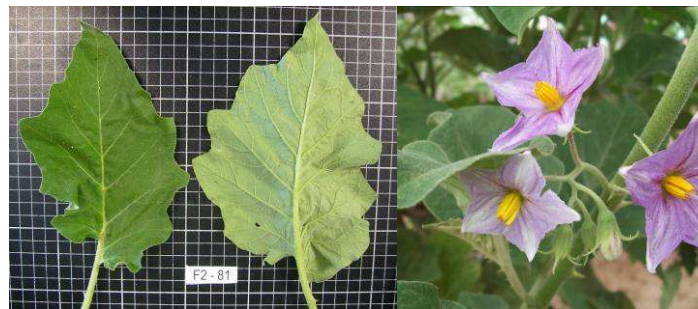
Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Ausente
Antocianos tallo: Ausente

Altura (cm.): 172
Ángulo guía ppal: 45°
Espinas entre nudos: 9

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 19,7
Anchura lámina (cm.): 13,2
Relación L/A: 0,67
Longitud pedicelo (cm.): 6,5
Lobulado hoja: Intermedio

Antocianos lámina foliar: Ausente
Espinas foliares: 8
Color espinas: Verde
Longitud espina mayor (mm): 10

Figura 50. Hoja e inflorescencia de F₂ - 81**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 7
Color corola: cc99ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,9
Exerción del estigma (mm): 10

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 49,0

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 82,64; -3,06; +23,82

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 56,28; -14,27; +21,46

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 57,43; +8,07; +32,26

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 77,34; -9,41; +22,35

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -25,21; 11,13; 8,44

Figura 51. Fruto de F₂ - 81

Entrada: F₂ - 85**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Intermedio**Antocianos tallo:** Intermedio**Altura (cm.):** 125**Ángulo guía ppal:** 70°**Espinas entre nudos:** 12**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 19,9**Anchura lámina (cm.):** 14,4**Relación L/A:** 0,72**Longitud pedicelo (cm.):** 8,1**Lobulado hoja:** Intermedio - fuerte**Antocianos lámina foliar:** Intermedio**Espinas foliares:** 8**Color espinas:** Morado**Longitud espina mayor (mm):** 8Figura 52. Hoja y flor de F₂ - 85**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 4**Color corola:** cc77ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 5,1**Exerción del estigma (mm):** 2**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 38,5**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

47,43; +22,40; +1,21

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

61,69; +11,99; +7,20

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

84,82; -2,59; +10,35

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

81,08; -1,79; +16,73

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):

-3,74; 0,80; 6,38

Figura 53. Fruto de F₂ - 85

Entrada: F₂ - 87**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Intermedio
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 181
Ángulo guía ppal: 85°
Espinas entre nudos: 13

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 17,9
Anchura lámina (cm.): 12,2
Relación L/A: 0,68
Longitud pedicelo (cm.): 6,5
Lobulado hoja: Fuerte

Antocianos lámina foliar: Débil
Espinas foliares: 0
Color espinas: -
Longitud espina mayor (mm): -

Figura 54. Hoja e inflorescencia de F₂ - 87**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 6
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 3,8
Exerción del estigma (mm): 9

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 15,5

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 80,41; -3,71; +18,28

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 34,66; +0,85; +6,03

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 58,61; +6,18; +27,93

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -21,80; +9,89; +9,65

Figura 55. Fruto de F₂ - 87

Entrada: F₂ - 100**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Muy fuerte**Antocianos tallo:** Muy fuerte**Altura (cm.):** 176**Ángulo guía ppal:** 90°**Espinas entre nudos:** 8**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 18,0**Anchura lámina (cm.):** 13,1**Relación L/A:** 0,73**Longitud pedicelo (cm.):** 8,9**Lobulado hoja:** Intermedio - fuerte**Antocianos lámina foliar:** Fuerte**Espinas foliares:** 8**Color espinas:** Morado**Longitud espina mayor (mm):** 8Figura 56. Hoja e inflorescencia de F₂ - 100**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 5**Color corola:** cc99ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 5,4**Exerción del estigma (mm):** 5**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 42,5**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

27,00; +3,71; +0,79

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

39,32; +8,82; +0,69

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

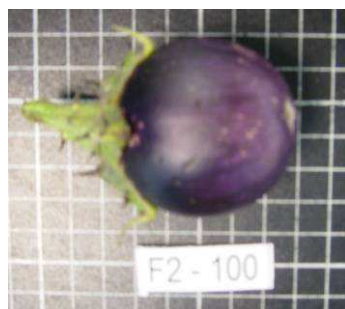
84,96; -2,11; +14,20

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

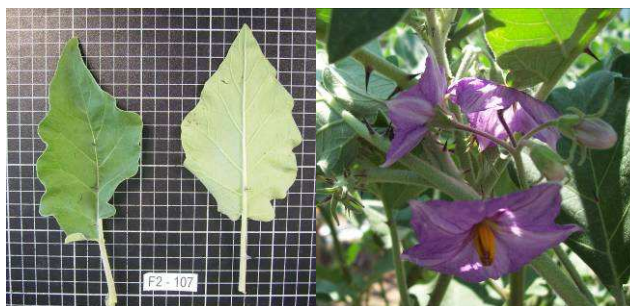
64,61; +4,62; +20,83

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀**- a*₀; b*₁₀ - b*₀):**

-20,55; 6,73; 6,63

Figura 57. Fruto de F₂ - 100

Entrada: F₂ - 101**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Fuerte**Antocianos tallo:** Fuerte**Altura (cm.):** 153**Ángulo guía ppal:** 110°**Espinas entre nudos:** 6**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 19,8**Anchura lámina (cm.):** 12,4**Relación L/A:** 0,63**Longitud pedicelo (cm.):** 7,8**Lobulado hoja:** Fuerte**Antocianos lámina foliar:** Fuerte**Espinas foliares:** 8**Color espinas:** Morado**Longitud espina mayor (mm):** 10Figura 58. Hoja e inflorescencia de F₂ - 101**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 4**Color corola:** cc99ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 4,2**Exerción del estigma (mm):** 8**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** -**Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):**
-**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**
-**Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):**
-**Color secundario de la piel (L*; a*; b*):**
-**Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):**
-

Entrada: F₂ - 107**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Fuerte**Antocianos tallo:** Fuerte**Altura (cm.):** 120**Ángulo guía ppal:** 40°**Espinas entre nudos:** 12**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 20,0**Anchura lámina (cm.):** 11,1**Relación L/A:** 0,56**Longitud pedicelo (cm.):** 6,3**Lobulado hoja:** Débil**Antocianos lámina foliar:** Fuerte**Espinas foliares:** 8**Color espinas:** Morado**Longitud espina mayor (mm):** 7Figura 59. Hoja e inflorescencia de F₂ - 107**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 5**Color corola:** cc99ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 4,8**Exerción del estigma (mm):** 8**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 41,0**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

30,26; +6,89; +2,60

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

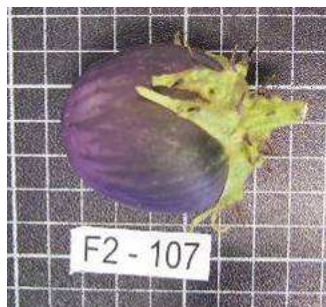
85,02; -2,24; +16,74

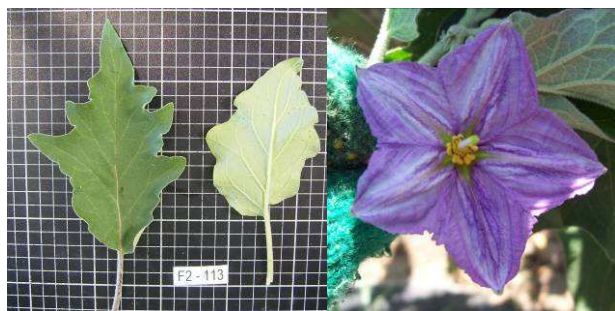
Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

69,37; +3,50; +26,68

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀**- a*₀; b*₁₀ - b*₀):**

-17,65; 5,74; 9,64

Figura 60. Fruto de F₂ - 107

Entrada: F₂ - 113Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Fuerte**Antocianos tallo:** Fuerte**Altura (cm.):** 145**Ángulo guía ppal:** 90°**Espinas entre nudos:** 0**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 17,9**Anchura lámina (cm.):** 10,6**Relación L/A:** 0,59**Longitud pedicelo (cm.):** 5,9**Lobulado hoja:** Fuerte**Antocianos lámina foliar:** Fuerte**Espinas foliares:** 0**Color espinas:** -**Longitud espina mayor (mm):** -Figura 61. Hoja y flor de F₂ - 113**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 3**Color corola:** cc99ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 5,3**Exerción del estigma (mm):** 5**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 63,0**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

41,11; +13,20; +1,11

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

72,34; -8,11; +21,47

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

89,54; -2,46; +16,32

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

73,82; +2,92; +29,32

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):

-19,36; 9,15; 11,55

Figura 62. Fruto de F₂ - 113

Entrada: F₂ - 124**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Muy fuerte
Antocianos tallo: Muy fuerte

Altura (cm.): 133
Ángulo guía ppal: 80°
Espinas entre nudos: 7

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 19,0
Anchura lámina (cm.): 12,5
Relación L/A: 0,66
Longitud pedicelo (cm.): 7,5
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Fuerte
Espinas foliares: 8
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 7

Figura 63. Hoja y flor de F₂ - 124**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 6
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 5,2
Exerción del estigma (mm): 7

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 44,0

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 83,85; -4,56; +19,88

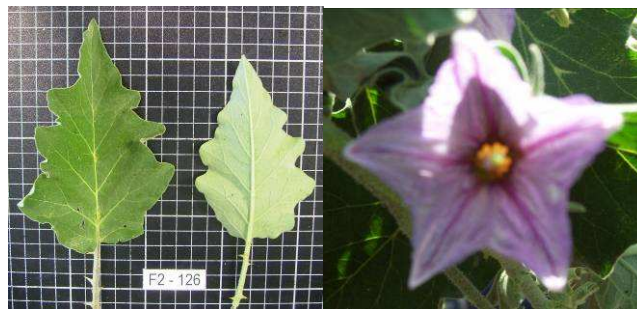
Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 20,79; +4,47; -0,04

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 51,88; +5,31; +21,04

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -32,27; 9,87; 1,16

Figura 64. Fruto de F₂ - 124

Entrada: F₂ - 126Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Intermedio**Antocianos tallo:** Intermedio**Altura (cm.):** 110**Ángulo guía ppal:** 100°**Espinas entre nudos:** 9**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 14,8**Anchura lámina (cm.):** 9,8**Relación L/A:** 0,66**Longitud pedicelo (cm.):** 4,7**Lobulado hoja:** Fuerte**Antocianos lámina foliar:** Intermedio**Espinas foliares:** 8**Color espinas:** Verde**Longitud espina mayor (mm):** 10Figura 65. Hoja y flor de F₂ - 126**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 7**Color corola:** cc99ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 4,3**Exerción del estigma (mm):** 7**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 16,0**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

57,93; -12,84; +19,39

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

73,02; -11,28; +23,55

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

78,28; +2,03; +18,25

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

64,11; +4,92; +28,60

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀**- a*₀; b*₁₀ - b*₀):**

-14,17; 2,89; 10,35

Figura 66. Fruto de F₂ - 126

Entrada: F₂ - 127**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Fuerte**Antocianos tallo:** Fuerte**Altura (cm.):** 108**Ángulo guía ppal:** 95°**Espinas entre nudos:** 16**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 17,7**Anchura lámina (cm.):** 9,7**Relación L/A:** 0,55**Longitud pedicelo (cm.):** 5,6**Lobulado hoja:** Intermedio**Antocianos lámina foliar:** Intermedio**Espinas foliares:** 16**Color espinas:** Morado**Longitud espina mayor (mm):** 9Figura 67. Hoja y flor de F₂ - 127**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 4**Color corola:** cc77ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 5,0**Exerción del estigma (mm):** 7**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 21,6**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

25,81; +3,65; +2,42

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

56,75; +3,43; +9,25

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

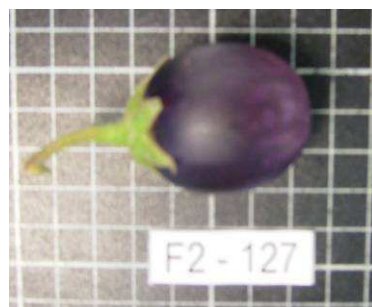
78,08; -4,66; +20,00

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

48,86; +5,35; +19,09

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀**- a*₀; b*₁₀ - b*₀):**

-29,22; 10,01; -0,91

Figura 68. Fruto de F₂ - 127

Entrada: F₂ - 135**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Fuerte
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 136
Ángulo guía ppal: 125°
Espinas entre nudos: 8

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 17,8
Anchura lámina (cm.): 9,8
Relación L/A: 0,55
Longitud pedicelo (cm.): 4,9
Lobulado hoja: Intermedio

Antocianos lámina foliar: Débil
Espinas foliares: 4
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 6

Figura 69. Hoja e inflorescencia de F₂ - 135**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 4
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 5,5
Exerción del estigma (mm): 7

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 13,5

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 83,21; -4,40; +23,11

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 33,80; + 16,20; - 2,89

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 70,95; +2,63; +27,65

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -12,26; 7,03; 4,54

Figura 70. Fruto de F₂ - 135

Entrada: F₂ - 138Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Intermedio**Antocianos tallo:** Intermedio**Altura (cm.):** 107**Ángulo guía ppal:** 105°**Espinas entre nudos:** 0**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 17,7**Anchura lámina (cm.):** 10,8**Relación L/A:** 0,61**Longitud pedicelo (cm.):** 6,0**Lobulado hoja:** Débil - intermedio**Antocianos lámina foliar:** Intermedio**Espinas foliares:** 0**Color espinas:** -**Longitud espina mayor (mm):** -Figura 71. Hoja e inflorescencia de F₂ - 138**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 5**Color corola:** cc99ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 5,3**Exerción del estigma (mm):** 2**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 110,0**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

55,02; +12,07; +7,14

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

79,86; -10,20; +26,30

Color de la pulpa en el momento del corte**(L*₀; a*₀; b*₀):**

88,34; -3,86; +21,36

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte**(L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):**

80,33; -2,39; +22,18

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀**- a*₀; b*₁₀ - b*₀):**

-8,01; 1,47; 0,82

Figura 72. Fruto de F₂ - 138

Entrada: F₂ - 150**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Intermedio
Antocianos tallo: Fuerte

Altura (cm.): 149
Ángulo guía ppal: 70°
Espinas entre nudos: 3

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 17,1
Anchura lámina (cm.): 9,7
Relación L/A: 0,57
Longitud pedicelo (cm.): 4,7
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Intermedio
Espinas foliares: 8
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 5

Figura 73. Hoja e inflorescencia de F₂ - 150**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 5
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 6,0
Exerción del estigma (mm): 5

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 16,3

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 66,94; +7,58; +32,40

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 23,94; +10,42; +1,03

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 67,66; -9,52; +31,31

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 0,82; -17,10; -1,09

Figura 74. Fruto de F₂ - 150

Entrada: F₂ - 152**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

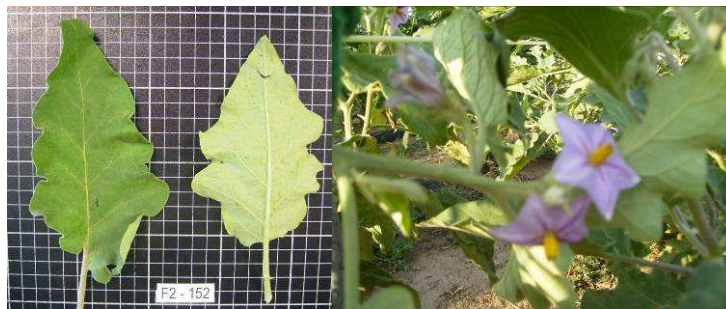
Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Ausente
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 117
Ángulo guía ppal: 65°
Espinas entre nudos: 4

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 16,2
Anchura lámina (cm.): 9,9
Relación L/A: 0,61
Longitud pedicelo (cm.): 4,5
Lobulado hoja: Intermedio

Antocianos lámina foliar: Débil
Espinas foliares: 4
Color espinas: Verde
Longitud espina mayor (mm): 4

Figura 75. Hoja e inflorescencia de F₂ - 152**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 3
Color corola: cc88ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,5
Exerción del estigma (mm): 2

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 33,0

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 82,13; -3,94; +28,84

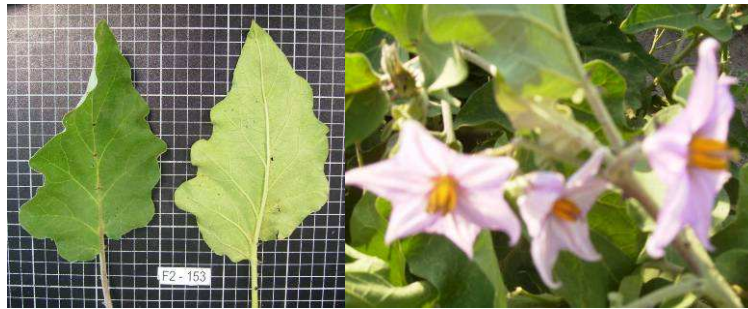
Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 42,39; -12,89; +16,44

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 58,58; +4,45; +27,14

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 71,54; -8,72; +16,19

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -23,55; +8,39; -1,70

Figura 76. Fruto de F₂ - 152

Entrada: F₂ - 153Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:****Hábito de crecimiento:** Intermedio**Antocianos en ápice:** Intermedio**Antocianos tallo:** Intermedio**Altura (cm.):** 144**Ángulo guía ppal:** 70°**Espinas entre nudos:** 7**Hoja:****Longitud lámina (cm.):** 18,0**Anchura lámina (cm.):** 11,3**Relación L/A:** 0,63**Longitud pedicelo (cm.):** 6,3**Lobulado hoja:** Intermedio**Antocianos lámina foliar:** Intermedio**Espinas foliares:** 15**Color espinas:** Morado**Longitud espina mayor (mm):** 7Figura 77. Hoja e inflorescencia de F₂ - 153**Inflorescencia****Nº flores por inflorescencia:** 3**Color corola:** cc77ff**Diámetro corola flor principal (cm.):** 6,0**Exerción del estigma (mm):** 2**Fruto:****Peso medio del fruto (g):** 45,3**Color principal de la piel (L*; a*; b*):**

29,34; +16,16; -0,85

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

56,70; +2,74; +11,88

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):

86,11; -6,97; +21,97

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):

69,38; +2,95; +27,99

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀**- a*₀; b*₁₀ - b*₀):**

-16,73; 9,92; 6,02

Figura 78. Fruto de F₂ - 153

Entrada: F₂ - 154Tipo: F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Intermedio
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 139
Ángulo guía ppal: 95°
Espinas entre nudos: 6

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 15,9
Anchura lámina (cm.): 10,0
Relación L/A: 0,63
Longitud pedicelo (cm.): 5,6
Lobulado hoja: Intermedio

Antocianos lámina foliar: Débil
Espinas foliares: 0
Color espinas: -
Longitud espina mayor (mm): -

Figura 79. Hoja y flor de F₂ - 154**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 5
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 5,6
Exerción del estigma (mm): 5

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 24,7

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 79,42; -3,35; +24,67

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 26,75; +12,90; -3,22

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 64,46; +1,90; +29,60

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):
 -

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -14,96; 5,25; 4,93

Figura 80. Fruto de F₂ - 154

Entrada: F₂ - 155**Tipo:** F₂ *S. incanum* x *S. melongena***Parte vegetativa:**

Hábito de crecimiento: Intermedio
Antocianos en ápice: Intermedio
Antocianos tallo: Intermedio

Altura (cm.): 135
Ángulo guía ppal: 90°
Espinas entre nudos: 8

Hoja:

Longitud lámina (cm.): 16,6
Anchura lámina (cm.): 11,0
Relación L/A: 0,66
Longitud pedicelo (cm.): 3,5
Lobulado hoja: Intermedio - fuerte

Antocianos lámina foliar: Débil
Espinas foliares: 8
Color espinas: Morado
Longitud espina mayor (mm): 7

Figura 81. Hoja y flor de F₂ - 155**Inflorescencia**

Nº flores por inflorescencia: 5
Color corola: cc77ff

Diámetro corola flor principal (cm.): 4,8
Exerción del estigma (mm): 5

Fruto:

Peso medio del fruto (g): 20,3

Color de la pulpa en el momento del corte (L*₀; a*₀; b*₀):
 77,37; -0,92, +27,06

Color principal de la piel (L*; a*; b*):
 34,25, +6,02; -3,60

Color de la pulpa a los 10 minutos del corte (L*₁₀; a*₁₀; b*₁₀):
 62,28; +4,25; +29,53

Color secundario de la piel (L*; a*; b*):

-

Pardeamiento enzimático (L*₁₀ - L*₀; a*₁₀ - a*₀; b*₁₀ - b*₀):
 -15,45, 5,17; 2,50

Figura 82. Fruto de F₂ - 155

4.2. CARACTERES CUANTITATIVOS

4.2.1. Material P₁, P₂, F₁ y F₂

En la tabla 5 se muestran los valores medios para algunos caracteres cuantitativos evaluados. Para el carácter altura de la planta, se observa como los híbridos F₁ obtienen valores superiores, 173,5 cm., a cualquiera de sus dos parentales, 117 y 131 cm. para *S. incanum* y *S. melongena* respectivamente, observándose por tanto el fenómeno de vigor híbrido en esta primera generación filial. Los individuos de la generación F₂ toman valores que comprenden desde los 84 hasta los 181 cm., siendo su valor medio de 135,21 cm.

En cuanto a la espinosidad, tanto las espinas foliares como las que se encuentran en el tallo, se manifiestan en uno de los parentales (*S. incanum*) y en la F₁, por lo que se interpreta un control dominante para el carácter. Los individuos F₂ toman valores que van desde la ausencia de espinas hasta la presencia de un total de 16. De los 32 individuos estudiados, 9 de ellos no muestran espinosidad ni en el tallo ni en la lámina foliar, lo que se ajusta a una segregación 3:1, por lo que este carácter puede estar regulado por un único gen.

El peso de los frutos es uno de los caracteres que mayor variabilidad ha presentado. Los parentales difieren significativamente el uno del otro, tomando un valor medio de 6,05 g/fruto en el parental *incanum* y 190 g/fruto para el parental *melongena*. Los individuos F₁ generaron frutos con valores más cercanos al parental *incanum*, 15,1 g/fruto y los pertenecientes a la generación F₂ tomaron valores comprendidos entre los obtenidos por ambos parentales, pero en ningún caso llegaron al peso del parental *melongena*, 13,5 a 107 g/fruto.

Tabla 5. Valores medios para algunos caracteres cuantitativos evaluados de los individuos P₁, P₂, F₁ y F₂

C. Cuantitativos	P ₁	P ₂	F ₁	F ₂
Altura planta (cm.)	117 (93 – 141)	131 (107 – 156)	173,5 (150 – 197)	135,21 (84 -181)
Ángulo Guía Ppal.	100 (65 – 120)	70 (60 – 80)	70 (60 – 90)	78,2 (40 – 125)
Relación L/A hoja	0,67 (0,66 – 0,69)	0,75 (0,73 – 0,78)	0,67 (0,64 – 0,69)	0,66 (0,53 – 0,78)
Espinas/Nudo (ud.)	7 (6 – 9)	0	11 (8 – 14)	6,56 (0 – 16)
Espinas foliares (ud.)	8 (6 – 10)	0	8 (6 – 10)	5,38 (0 – 16)
Espina mayor (cm.)	4	0	9 (8 – 10)	7 (4 – 16)
Flores/Inflo. (ud.)	6 (4 – 8)	4 (3 – 5)	6 (5 – 7)	4,5 (3 – 7)
Diámetro corola (cm.)	3,3 (2,9 – 3,8)	5 (4, 2 – 5,7)	4,8 (4,4 – 5,4)	4,79 (3,3 – 6)
Exención estigma (mm.)	7 (6 – 8)	0	7 (6 – 8)	5,24 (2 – 10)
Peso fruto (g)	6,05 (3,8 – 8,3)	190 (158 – 220)	15,1 (9,5 – 20,3)	44,16 (13,5 – 107)

4.3. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR. GENOTIPADO

4.3.1. Obtención de marcadores CAPs a partir de los COSII

En total, se han estudiado 123 marcadores tipo COSII, de los cuales se pudo conseguir una banda única en 88 de ellos (71,54%), lo que permitió su secuenciación. En la tabla 6 se indica la T_m a la que se realizó el protocolo de PCR para cada marcador. En el resto de los casos no se pudo optimizar el protocolo de PCR, obteniéndose bandas múltiples únicas o ninguna banda, según fuese el caso (Figura 83).

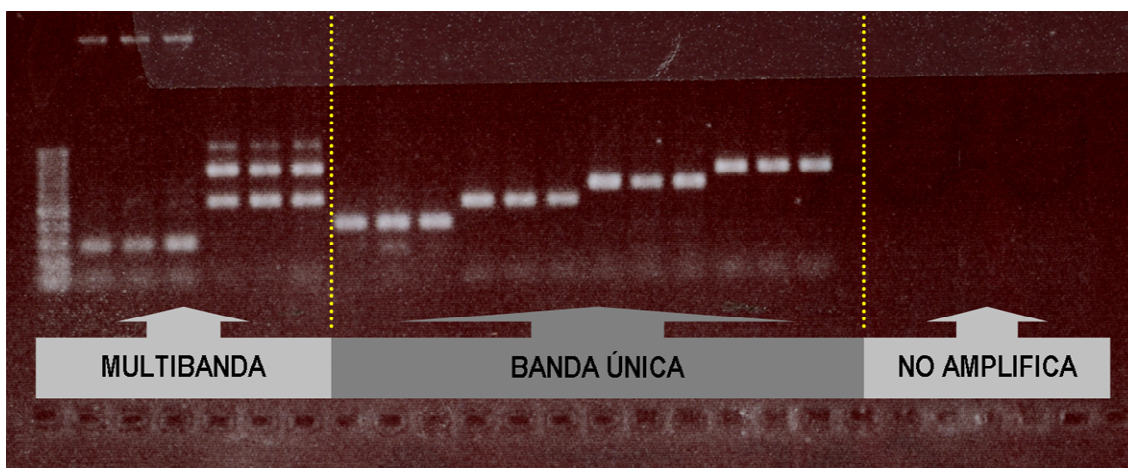


Figura 83. Revelado gel de agarosa amplificación marcadores COSII. Se pueden observar bandas múltiples, únicas y no amplificadas

De los marcadores que presentaron banda única se consiguió secuenciar satisfactoriamente 74 de ellos. En 11 de estos 74 casos, las secuencias del parental *S. incanum* y *S. melongena* resultaron ser idénticas, no encontrándose ningún SNP. En otros 12 marcadores la secuenciación no funcionó. Esto puede deberse a diversas causas: aunque en el gel se viera una única banda, realmente hubiesen dos en el producto de PCR; uno o ambos de los parentales no fueran homocigotos para este locus, con lo que en el amplificado habrían dos secuencias distintas, sucediendo lo mismo que en el caso anterior; o que el amplificado tuviera una zona rica en una misma base (A, G, C o T), lo que provoca una mala secuenciación. Una posible solución para los marcadores en los que se obtuvieron bandas múltiples, sería rescatar la propia banda del gel y purificarla para su posterior secuenciación. En el caso de no poder separar físicamente la banda del gel, la solución hubiera sido clonar el propio producto de la PCR. Con esto se consigue clonar una única banda, aunque se tendrían que secuenciar varios clones para comprobar cuantas secuencias distintas existen. Estas técnicas no se realizaron por la cantidad de tiempo necesario que se ha de invertir para su puesta a punto y realización de las mismas.

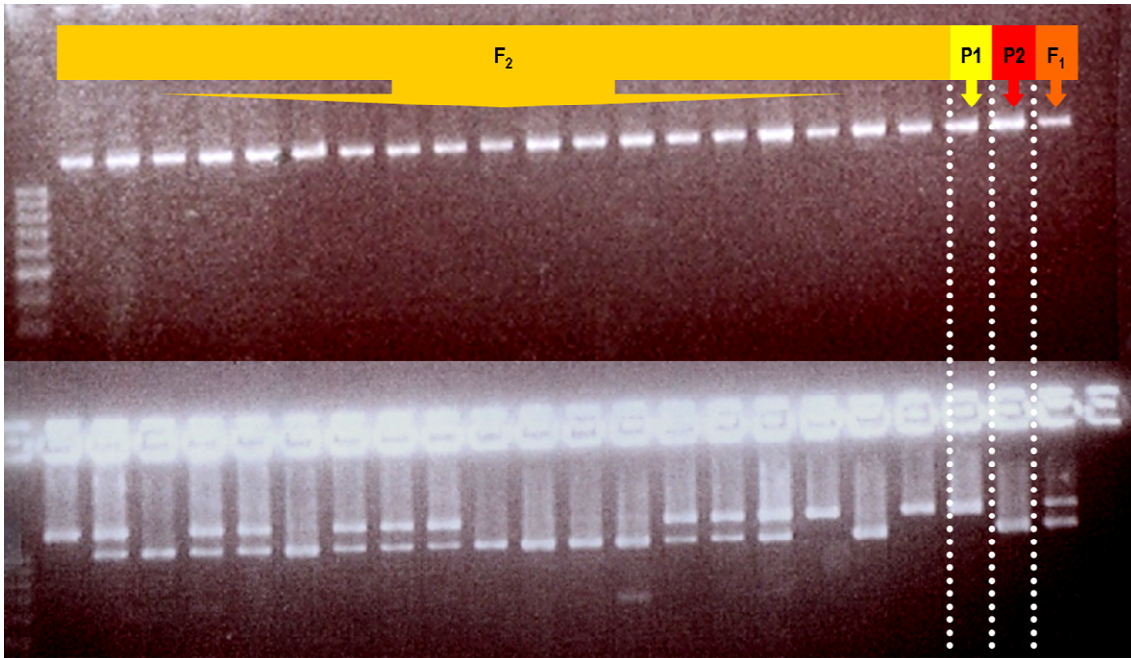


Figura 84. Ejemplo de producto de amplificación PCR marcador T1480 (arriba) y resultado de digestión con enzima HindI (abajo)

De las 63 secuencias en las cuales sí se localizaron SNPs, se encontró una enzima de restricción que cortaba de manera distinta para una de las dos secuencias en 44 ocasiones (Figura 84) lo que supone un 60,84% de las veces. En el resto de ocasiones, 19 en total, se tuvo que diseñar dCAPs para poder generar un sitio de restricción que permitiera distinguir las bandas obtenidas de ambos parentales. En total, de los 44 CAPs estudiados, se han mapeado 37. En cada uno de los casos se indica la enzima con la que se realizó la restricción y la altura esperada de las bandas para cada uno de los parentales (Tabla 6).

Para aumentar la eficacia del estudio, y por tanto el número de marcadores mapeados, se debería aumentar en número de marcadores empleados. Wu et al., (2008), trabajaron con 200 marcadores tipo COSII para finalmente incluir en su mapa de ligamiento 110 marcadores de este tipo. Aunque el presente estudio se haya realizado con marcadores cuya efectividad está probada, no hay que olvidar que las familias estudiadas en ambos casos no son las mismas. En el caso del estudio de Wu et al., (2008), se trabajó con un cruce de *S. melongena* x *S. linnaeanum*, especies de berenjena entre las que existe una mayor distancia genética que entre los parentales de la familia estudiada en este caso, *S. melongena* y *S. incanum*, que son especies con una mayor similitud del genoma y por lo tanto presentan una menor tasa de polimorfismo en las secuencias. Por esta razón marcadores que sí pudieron mapearse en el primer estudio, no han sido útiles para este.

Tabla 6. Resumen de los marcadores COSII estudiados. Se indican en cuales se pudo desarrollar marcadores CAPs o dCAPs, con que enzima de restricción se digirió, las alturas esperadas para cada parental y la Tm óptima de amplificación

MARCADOR	BANDA ÚNICA	SNPs	CAPs/dCAPs	MAPEADA	Altura (bp)	Enzima	<i>melongena</i>	<i>incanum</i>	Tm
C2At5g51970	No								
C2At1g14810	Sí	Ok	CAPs	Sí	490	MaeIII	490	350	58
C2At3g06580	No								
C2At3g23590	Sí	Prueba enzima teórica		Sí	650	TaiI	150	310	55
C2At3g12630	No								
C2At5g13700	Sí	Ok	CAPs		500				58
C2At4g00740	No								
C2At5g09580	Sí	Ok	CAPs	Sí	490	TseI	490	390	55
C2At3g18860	Sí	Ok	CAPs	Sí	>1000	AluI	150	250	55
C2At3g51510	Sí	Ok	dCAPs		350				55
C2At3g56210	Sí	Ok	dCAPs		300				55
C2At5g45760	Sí	Ok	dCAPs		>1000				55
C2At2g34560	Sí	Sec. Sucia			700				50
C2At4g04955	Sí	Ok	CAPs	Sí	450	MaeIII	450	110	55
C2At1g11380	Sí	Misma sec.			820				55
C2At1g11430	Sí	Prueba enzima teórica		Sí	800	Hin1II	650	500	55
C2At2g18030	No								
C2At5g67370	Sí	Ok	CAPs	Sí	400	TaqI	400	110	58
T1480	Sí	Ok	CAPs	Sí	>1000	HindIII	1000	>1000	55
C2At3g01480	Sí	Ok	dCAPs		700				58
C2At3g26900	Sí	Sec. Sucia			900				55
C2At3g27310	Sí	Ok	CAPs	Sí	470	AccI	470	220	55
C2At4g18230	Sí	Ok	CAPs		850				55
C2At1g28530	Sí	Ok	CAPs		340				55
C2At1g60440	Sí	Ok	CAPs	Sí	900	TaaI	190	210	55
C2At1g67700	Sí	Ok	dCAPs		400				55
C2At1g23890	Sí	Ok	CAPs	Sí	510	BsaWI	410	510	55
C2At5g62390	Sí	Ok	dCAPs		>1000				58
C2At1g72030	No								
C2At5g23880	Sí	Ok	CAPs	Sí	500	RsaI	450	470	55
C2At1g51160	Sí	Ok	dCAPs		500				55
C2At5g17170	No								
C2At5g41040	Sí	Ok	CAPs	Sí	290	AluI	280	250	58
C2At3g03100	Sí	Ok	dCAPs		750				58
C2At5g60160	No								
C2At3g48330	Sí	Ok	CAPs	Sí	510	AflIII	510	430	55
C2At5g49970	Sí	Ok	CAPs		650				55
C2At5g08050	Sí	Ok	CAPs	Sí	760	AccI	760	520	55
C2At1g18660	No								
C2At1g16080	Sí	Ok	CAPs	Sí	480	AflII	250	480	58
C2At1g79910	No								
C2At3g13700	Sí	Ok	dCAPs						
C2At3g20240	Sí	Ok	CAPs		480				58
C2At3g14075	No								
C2At3g13235	Sí	Sec. Sucia			200				50
C2At2g46340	No								
U217183	Sí	Misma sec.			300				55
C2At1g09920	Sí	Ok	CAPs	Sí	600	TaqI	190	310	58
C2At1g19340	No								
C2At1g47830	No								

MARCADOR	BANDA ÚNICA	SNPs	CAPs/ dCAPs	MAPEADA	Altura (bp)	Enzima	<i>melongena</i>	<i>incanum</i>	Tm
T1933	Sí	Ok	CAPs	Sí	960	AflIII	960	530	55
C2At2g46580	Sí	Ok	dCAPs		980				55
C2At1g79790	No								
C2At1g48300	Sí	Misma sec.			600				55
C2At5g21170	Sí	Ok	CAPs	Sí	>1000	BsaHI	450	210	55
C2At2g39690	Sí	Ok	dCAPs		760				55
C2At3g46780	No								
C2At3g11210	No								
C2At1g21640	Sí	Ok	dCAPs		450				55
C2At4g10030	Sí	Ok	CAPs	Sí	510	MaeI	480	510	55
C2At1g20050	Sí	Ok	CAPs	Sí	>1000	BstYI	Dominante		60
C2At2g18710	No								
C2At4g30580	Sí	Ok	CAPs		380				55
C2At5g56940	No								
C2At2g42750	Sí	Ok	CAPs	Sí	600	HinII	340	260	55
C2At5g48300	Sí	Misma sec.							
C2At1g53670	Parentales Polimórficos			Sí			890	920	55
C2At1g55870	Sí	Ok	CAPs	Sí	900	BsaBI	440	620	60
C2At1g55670	No								
C2At5g56130	Sí	Ok	CAPs		150				60
C2At1g56050	Parentales Polimórficos			Sí					55
T0463	Sí	Sec. Sucia							55
C2At1g29320	Sí	Ok	dCAPs						55
C2At5g45680	Sí	Misma sec.			190				55
C2At1g18480	Sí	Misma sec.							55
C2At1g30360	Sí	Ok	dCAPs		500				60
C2At5g11490	Sí	Ok	CAPs	Sí	430	MaeI	350	250	55
C2At5g47010	Sí	Misma sec.			650				60
C2At1g10580	Sí	Misma sec.			340				55
C2At5g41270	Sí	Ok	dCAPs		650				60
C2At5g41350	No								
C2At4g23840	Sí	Sec. Sucia			420				55
C2At3g09920	Sí	Ok	CAPs	Sí	>1000	BclII	360	640	55
C2At2g37240	Sí	Ok	CAPs		360				60
C2At2g37500	No								
C2At5g58410	No								
C2At3g63190	Sí	Sec. Sucia			490				60
C2At1g07310	No								
C2At1g04530	Sí	Ok	CAPs		760				55
T1065	Sí	Sec. Sucia			490				60
C2At1g30110	Sí	Sec. Sucia			600				55
C2At1g25375	Sí	Ok	dCAPs		270				55
C2At3g25690	No								
C2At4g28830	Sí	Ok	CAPs	Sí	>1000	Bstz17I	510	250	55
C2At4g03280	No								
C2At4g11120	Sí	Sec. Sucia			>1000				55
C2At4g18593	Sí	Sec. Sucia			560				55
C2At1g64770	Sí	Ok	CAPs	Sí	680	PSfI	680	440	55
C2At1g24340	Sí	Ok	CAPs	Sí	310	Tsp509I	160	210	55
C2At1g26945	No								
C2At1g69420	No								

MARCADOR	BANDA ÚNICA	SNPs	CAPs/ dCAPs	MAPEADA	Altura (bp)	Enzima	<i>melongena</i>	<i>incanum</i>	Tm
C2At4g24830	No								
C2At1g26520	Sí	Misma sec.			400				55
C2At3g08760	Sí	Ok	CAPs	Sí	760	PaeI	410	760	55
C2At3g57270	Sí	Ok	CAPs	Sí	730	Sau96I	430	730	55
C2At4g22260	Sí	Ok	CAPs		390				55
C2At3g52640	Sí	Ok	CAPs	Sí	700	AflIII	Dominante		55
C2At5g16630	Sí	Ok	CAPs		850				55
C2At3g54840	Sí	Misma sec.			380				55
C2At4g15010	Sí	Ok	CAPs	Sí	220	AluI	220	110	55
C2At5g64730	Parentales Polimórficos			Sí					55
C2At3g62940	Sí	Ok	dCAPs		620				55
C2At1g05055	Sí	Ok	CAPs		530				55
C2At4g39870	Sí	Misma sec.			600				55
C2At2g01770	Sí	Ok	dCAPs		720				55
C2At3g51010	Sí	Sec. Sucia			>1000				55
C2At2g45620	No								
C2At2g39580	Sí	Ok	CAPs	Sí	850	DdeI	850	520	55
C2At5g57970	No								
C2At1g33970	No								
C2At5g59960	Sí	Sec. Sucia			750				55
C2At2g28490	Sí	Ok	dCAPs		900				55
C2At5g60600	Sí	Ok	CAPs	Sí	690	RsaI	500	690	55

4.3.2. Construcción del mapa de ligamiento

El mapa genético (Figura 85) es en realidad un mapa consenso generado a partir de los mapas de ligamiento obtenidos de las generaciones F₂ y BC₁ del cruce *S. melongena* x *S. incanum*. A los datos obtenidos a partir del genotipado con marcadores CAPs se le añadieron los relativos al genotipado con marcadores tipo SSRs, realizado por Maria Hurtado Ricart (Comunicación personal, 2009) y desarrollados por Juan Pablo Manzur Poblete (Comunicación personal, 2009). Este mapa consta de un total de 63 marcadores, de los cuales 34 son de tipo CAPs, 3 se genotiparon gracias a la diferencia de altura entre las bandas conseguidas de los parentales al amplificar vía PCR el cebador correspondiente al marcador COSII y 26 son SSRs, que se hallan distribuidos en 12 grupos de ligamiento, abarcando un total de 363 cM, siendo la distancia media entre marcadores de 5,76 cM. En el caso de otros mapas realizados en berenjena, como son los desarrollados por Doganlar et al. (2002b) y Wu et al. (2008), mediante el uso de RFLPs el primero y RFLPs mas COSII el segundo, cubren un área del genoma superior a los 1500 cM, valiéndose para ello de 233 marcadores en el primer caso y de 343 en el segundo. Las distancias medias entre marcadores son similares a la obtenida en el mapa realizado en este estudio, 6,35 y 4,4 cM respectivamente. Esto se debe a que aunque se haya utilizado un número más bajo de marcadores, estos cubren una distancia menor del genoma, lo que disminuye la distancia media entre ellos. Además existen zonas donde están situados

marcadores que no están ligados al resto del grupo de ligamiento al que teóricamente pertenecen y por lo tanto la distancia entre esos marcadores se desconoce.

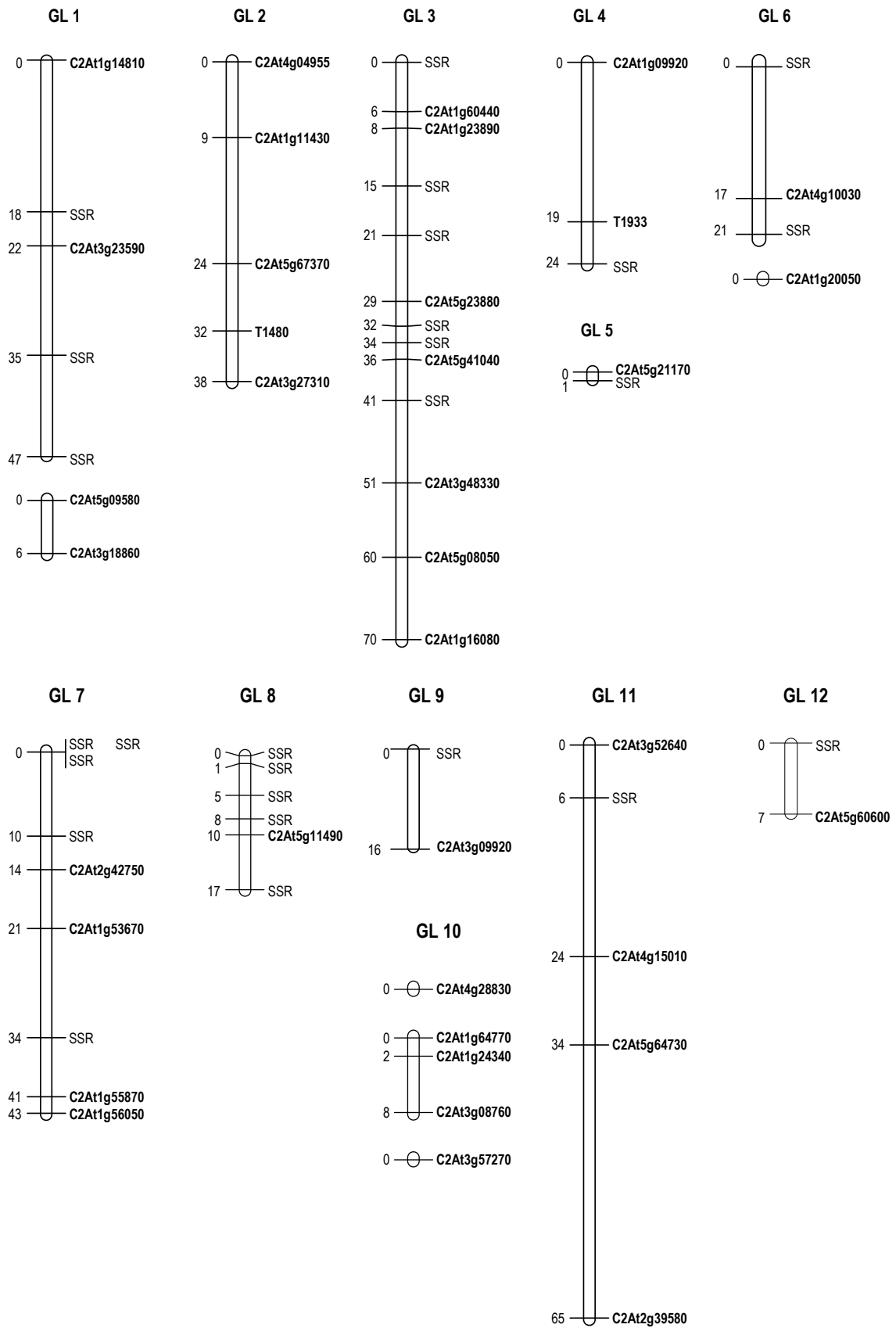
Como puede verse en la figura 85, existen grupos de ligamiento los cuales se subdividen en otros menores, este es el caso de los grupos 1, 6 y 10. Esto se debe a la falta de marcadores intermedios entre ellos, lo que provoca que no se tomen como ligados marcadores que realmente sí se sitúan dentro del mismo grupo de ligamiento. Esto podemos afirmarlo gracias a estudios previos donde se ha trabajado con este tipo de marcadores y de los cuales se conoce su posición relativa dentro del genoma de berenjena (Wu et al., 2008).

Los grupos donde se concentran más marcadores COSII son el grupo 2 y grupo 3. Cabe señalar que es en estos grupos donde más información previa existía en forma de marcadores. En cambio, en los grupos 5, 6 y 12 el número de marcadores COSII situados es menor, debido a que en ellos es donde se disponía de una menor cantidad de información.

El uso de marcadores CAPs para el genotipado presenta una serie de ventajas respecto al uso de otro tipo de marcadores, ya que además de ser codominantes, permiten el mapeo comparativo y el intercambio de información con otros estudios, incluso cuando se trata de especies distintas. En el caso de realizar mapas a partir de marcadores RAPDs y AFLPs, Nunome et al., (1998 y 2001), se asume una pérdida de información en el genotipado debido a la naturaleza dominante de los mismos. Aunque en estos mapas la distancia cubierta por el genoma era más amplia y el número de marcadores mapeados mayor, la información potencialmente útil de estos mapas es inferior, ya que sólo puede utilizarse en la familia con la que se generó el mapa, no pudiendo extrapolarse a otros estudios. Para aumentar la resolución se incluyeron marcadores codominantes tipo SSRs en estos mapas, pero por el contrario, el número de grupos de ligamiento aumentó de 12 a 17. En cambio, en nuestro mapa, gracias al uso de marcadores COSII, grupos de ligamiento que inicialmente no tenían relación, se han podido asociar haciendo uso de información extraída del mapa generado por Wu et al., (2008).

La construcción de un mapa genético con marcadores RFLPs (Doganlar et al., 2002b) presenta ventajas similares al uso de marcadores COSII. Se trata de marcadores codominantes, basados en la homología de una sonda, en este caso provenientes de cADNs y ESTs, con el ADN genómico de la familia estudiada. Esto permite trabajar con sondas extraídas de tomate, permitiendo realizar mapeo comparativo y sintenia entre ambas especies. La desventaja que presentan frente al uso de marcadores COS, es la dificultad en la realización de su protocolo. Estos últimos son marcadores tipo PCR y restricciones del amplificado, lo que los hace sencillos, rápidos y repetibles.

Figura 85. Mapa de ligamiento de *S. melongena* x *S. incanum*. Marcadores COSII en **negrita**

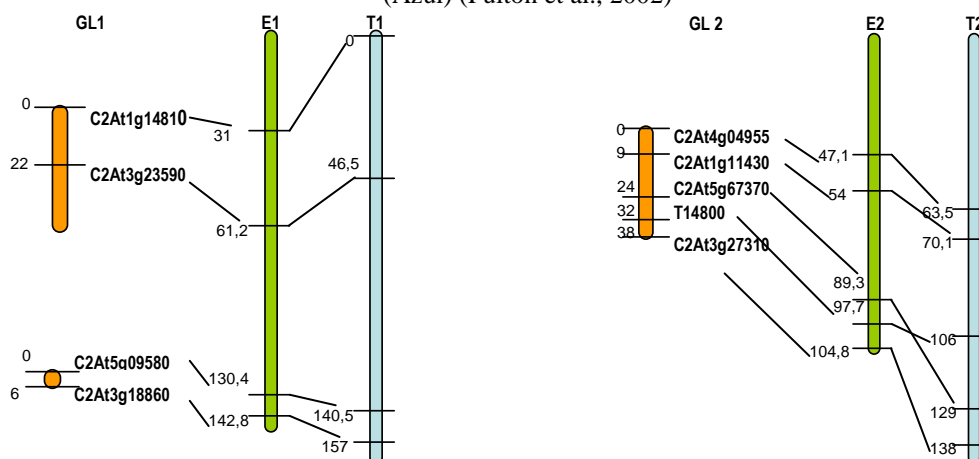


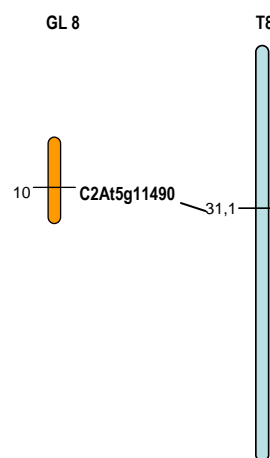
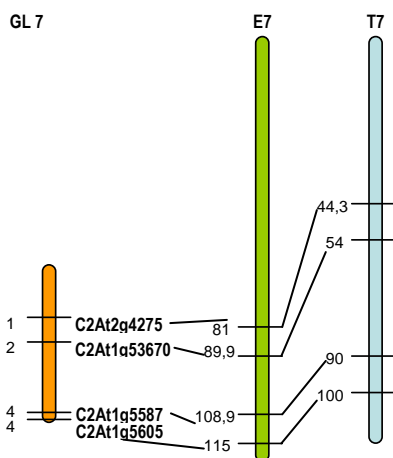
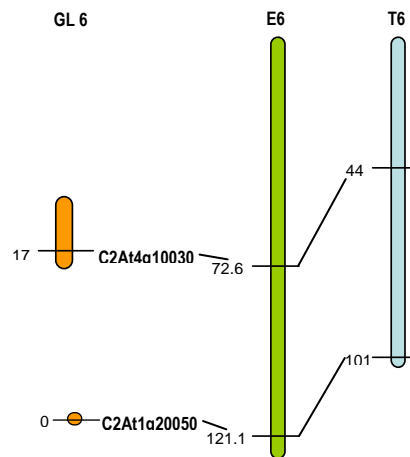
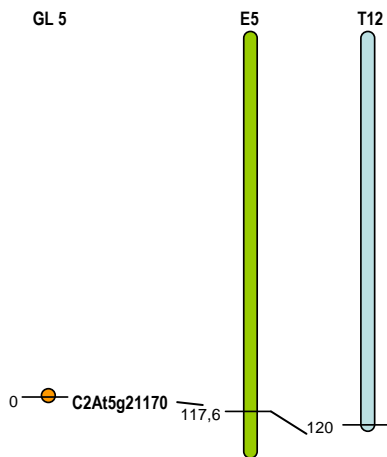
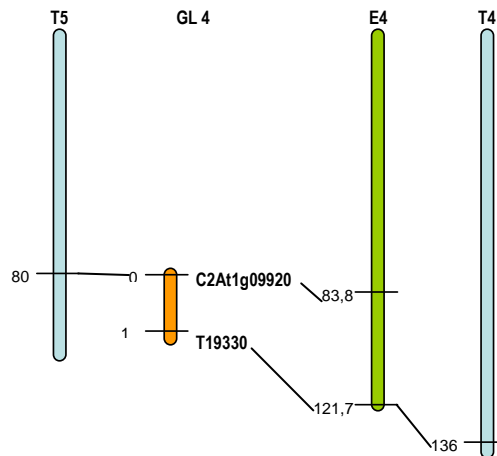
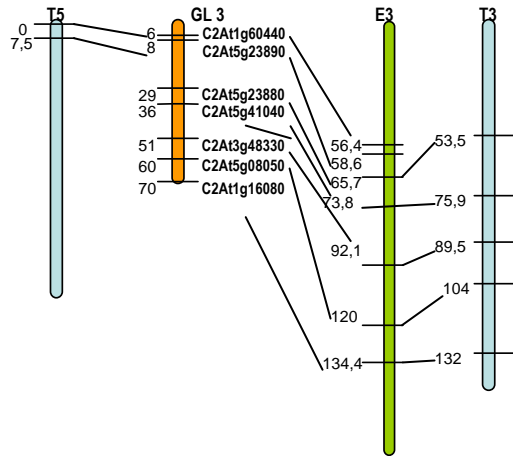
4.3.3. Mapeo comparativo y relaciones de sintenia. Berenjena vs Tomate

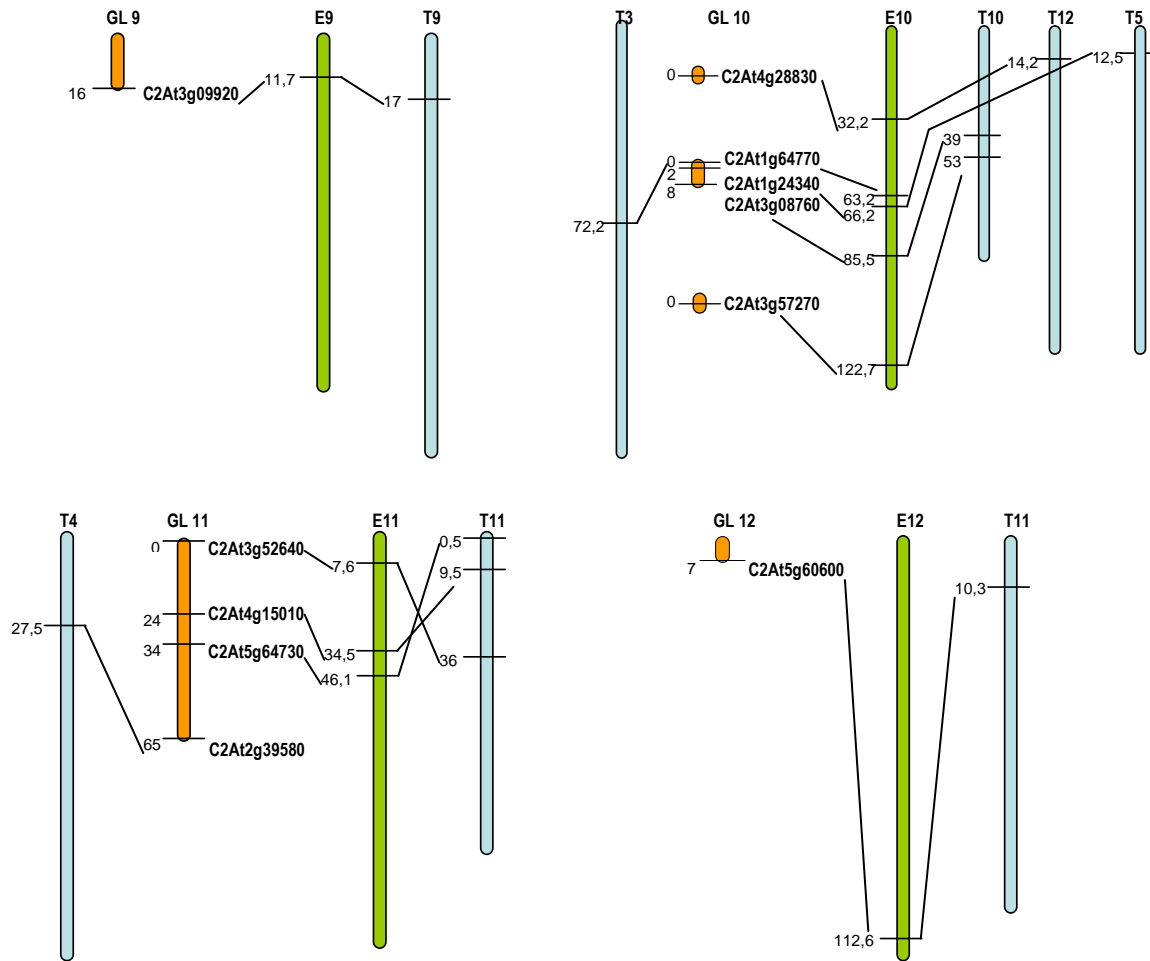
Las relaciones de sintenia entre berenjena y tomate (Figura 86) se describen mediante la representación comparada de los grupos de ligamiento del mapa construido en este trabajo, los mismos marcadores situados en el mapa de berenjena de donde se extrajeron los marcadores aquí utilizados (Wu et al., 2008) y los homólogos a estos en los cromosomas de tomate. A efectos de comparación, las diferencias encontradas en el genoma de berenjena respecto al de tomate se realizan tomando como patrón el mapa Tomato-EXPEN 2000; *S. lycopersicum* LA925 x *S. pennellii* LA716, genotipado en individuos F₂ (Fulton et al., 2002).

El presente mapa muestra una colinealidad total con el mapa de COSII de Wu et al., (2008), difiriendo solamente en la distancia relativa en cM existente entre marcadores, debido al menor número de ellos anclados a los diferentes grupos de ligamiento. La homología existente entre los dos genomas nos aporta información acerca de la zona del genoma que se ha mapeado, lo que nos indica en que zona o zonas de cada uno de los cromosomas se deben centrar futuras investigaciones, para así poder obtener datos de todo el genoma y no sólo de zonas concretas. La sintenia detallada entre los genomas de tomate y berenjena podrá utilizarse para predecir la posición relativamente precisa de los nuevos marcadores COSII probados en tomate, en el mapa de berenjena, lo que a su vez permitirá las comparaciones entre estudios de QTLs en las dos especies. Por otra parte, el poseer un mapa genético más denso, facilitará y acelerará la creación de líneas de introgresión (ILs) de *S. melongena* con fragmentos del genoma de *S. incanum*.

Figura 86. Mapa comparativo entre los grupos de ligamiento del mapa de berenjena de este proyecto (Naranja), el mapa de berenjena de Wu et al., 2008 (Verde) y el mapa de tomate Tomato-EXPEN 2000 (Azul) (Fulton et al., 2002)







Comparando los mapas de ligamiento de berenjena y de tomate, observamos como en 4 ocasiones se dan inversiones puntuales en el orden de los marcadores para cada una de las especies. Este es el caso de los marcadores C2At5g67370 y T1480 en el grupo de ligamiento 2 y los marcadores C2At3g52640, C2At4g1501 y C2At5g64730 del grupo 11.

Estudiando cada grupo de ligamiento por separado se puede observar como ambos genomas presentan una estructura similar, salvo por varias translocaciones localizadas en los cromosomas 3, 4 y 11. En estos casos la homología es casi total, a excepción de una pequeña zona en cada uno de los cromosomas, la cual pertenece a otro cromosoma distinto en tomate. La translocación más importante se observa en el grupo número 11 de berenjena, ya que está distribuido en 4 grupos distintos en tomate, el 3, 5 10 y 12.

El mapeo comparativo entre estas dos especies ha revelado que los reagrupamientos del genoma que más suceden entre estas dos especies, son las inversiones paracéntricas y translocaciones (Wu et al., 2008).

4.3.4. Estudio de relaciones sinténicas entre berenjena y tomate

El estudio de segmentos sinténicos conservados (CSS) (Wu et al., 2008), ha revelado que, salvo en casos excepcionales, se ha conservado el orden y orientación de estas secuencias en los principales cultivos de solanáceas como: tomate, patata, pimiento, berenjena y petunia. Por esto mismo, se puede teorizar que todos los datos relativos al tomate pueden extrapolarse al resto de solanáceas, incluso la posición de un gen respecto de un marcador al que se encuentre ligado. A tal efecto, se compararon las secuencias obtenidas en este trabajo con la base de datos de BACs secuenciados de tomate de SOL Genomics Network (Mueller et al., 2005).

En el caso positivo de que una de las secuencias presentase homología con un determinado BAC, se corroboró que el BAC y el marcador se situasen en el mismo grupo de ligamiento. En la tabla 7, se muestra el grupo de ligamiento y la posición en el mapa de berenjena y tomate de cada marcador. En cada caso se indica si el marcador tiene asociado un BAC y cual es.

Tabla 7. Lista de marcadores COSII mapeados, grupo de ligamiento y posición en mapa de berenjena y tomate de cada uno y BAC asociado si lo tiene

MARCADOR	G. L. BERENJENA	POSICIÓN BERENJENA (cM)*	BAC	Score	E Value	Anotado	G. L. TOMATE	POSICIÓN TOMATE (cM)
C2At1g14810	1	31,6	NO				1	0
C2At3g23590	1	61,2	NO				1	46,5
C2At5g09580	1	130,4	NO				1	140
C2At3g18860	1	142,8	NO				1	157
C2At4g04955	2	47,1	C02SLe0005F12.1	78	2,00E-13	NO	2	63,5
C2At1g11430	2	54	NO				2	70,1
C2At5g67370	2	89,3	C02SLe0053H21.1	244	1,00E-63	SI	2	72,2
T1480	2	97,7	C02HBa0172G12.2	319	7,00E-86	NO	2	106
C2At3g27310	2	104,8	NO				2	138
C2At1g60440	3	56,4	C05SLm0005B15.1	208	2,00E-52	SI	5	0
C2At1g23890	3	58,6	NO				5	7,5
C2At5g23880	3	65,7	C03HBa0031M05.1	208	7,00E-53	NO	3	55,3
C2At5g41040	3	73,8	NO				3	75,9
C2At3g48330	3	92,1	NO				3	89,5
C2At5g08050	3	120	C03HBa0233O20.1	78	4,00E-13	SI	3	104
C2At1g16080	3	134,4	NO				3	132
C2At1g09920	4	83,8	NO				12	80
T1933	4	121,7	C04HBa0068N05.1	280	5,00E-74	SI	4	136
C2At5g21170	5	117,6	C12HBa0224N06.1	222	6,00E-57	SI	12	120
C2At4g10030	6	73,6	C06HBa0106K23.1	109	7,00E-23	NO	6	44
C2At1g20050	6	121,1	C06SLm0059G17.1	147	4,00E-34	NO	6	101
C2At2g42750	7	81	C07SLm0075L20.1	367	e-100	NO	7	44,3
C2At1g53670	7	89,9	C07HBa0102J11.1	468	1E-130	SI	7	54

MARCADOR	G. L. BERENJENA	POSICIÓN BERENJENA (cM)*	BAC	Score	E Value	Anotado	G. L. TOMATE	POSICIÓN TOMATE (cM)
C2At1g55870	7	108,9	C07HBa0309B15.1	94	6,00E-18	NO	7	92
C2At1g56050	7	150	C07SLm0077G20.1	351	2E-95	NO	7	100
C2At5g11490	8	52,1	C08SLm0118A18.1	373	e-102	SI	8	41,5
C2At3g09920	9	11,7	C09HBa0203J14.1	323	4,00E-87	SI	9	17
C2At4g28830	10	32,2	C12HBa0026C13.1	206	5,00E-52	SI	12	14,2
C2At1g64770	10	63,2	NO				3	72,2
C2At1g24340	10	66,2	C05SLm0037H06.1	204	9,00E-52	SI	5	12,5
C2At3g08760	10	85,3	NO				10	39
C2At3g57270	10	122,7	NO				10	53
C2At4g15010	11	34,5	NO				11	9,5
C2At5g64730	11	46	NO				11	0,5
C2At4g39870	11	59,7	C04HBa0077O05.2	496	e-139	SI	4	62,7
C2At5g60600	12	112,6	NO				11	79

*Distancia según Wu et al., (2008).

De los 37 marcadores mapeados, 19 de ellos presentaban homología de secuencia con algún BAC secuenciado de tomate. De estos 19 BACs 11 de ellos están anotados y por tanto se conocen los posibles genes que contienen. En la figura 87, se puede ver el ejemplo del grupo de ligamiento 3. Aparecen 3 marcadores asociados a un BAC de tomate y 2 de ellos están anotados. Por todo lo mencionado con anterioridad, esta información puede resultar útil en un futuro para poder identificar los potenciales genes responsables de un carácter mediante mapeo posicional. Así, si un marcador está fuertemente ligado a un carácter y este presenta homología de secuencia con algún BAC anotado de tomate, se podría buscar allí el gen candidato responsable de ese carácter.

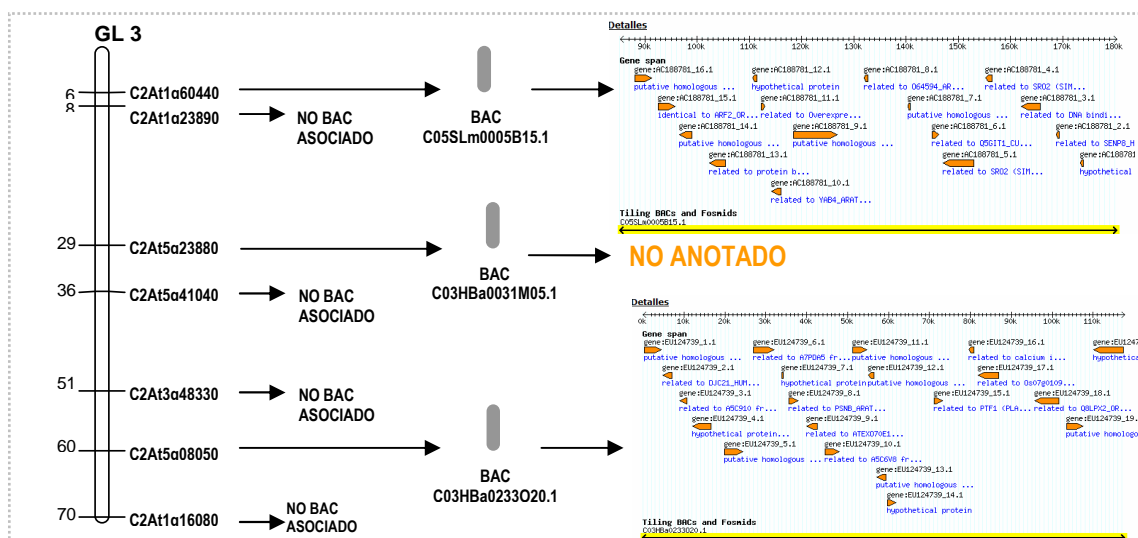


Figura 87. Microsentencia entre berenjena y tomate

CONCLUSIONES



La sonrisa ancha, la lluvia en el pelo,
no importaba nada, ibas a encontrarte con él,
con él, con él, con él, con él

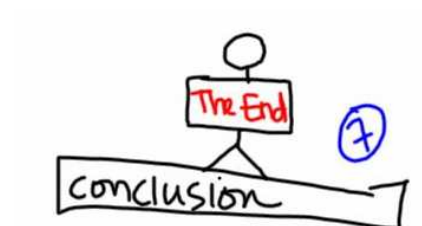
5. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se han obtenido como resultado de la realización de este trabajo experimental son las siguientes:

1. Se han caracterizado morfológicamente los parentales (*S. incanum* y *S. melongena*), su híbrido F₁ y 32 individuos F₂. Dentro de los materiales estudiados se ha encontrado una considerable variación para muchos de los caracteres analizados. De esta forma estos materiales suponen una fuente importante de variación para la mejora genética de la berenjena.
2. Se han caracterizado molecularmente 91 plantas (32 F₂ y 58 BC₁) obtenidas del cruce *S. incanum* x *S. melongena*, con 37 marcadores genéticos. En 3 ocasiones se utilizó el polimorfismo de partida de los parentales obtenidos a partir de la amplificación mediante PCR de marcadores COSII y en los 34 casos restantes se diseñaron marcadores CAPs a partir de los marcadores COSII.
3. Se ha construido un mapa de ligamiento a partir de los datos del genotipado de los 91 individuos con los 37 marcadores moleculares. A estos datos se le añadieron los referentes al genotipado con SSRs obtenidos por Maria Hurtado Ricart (Comunicación personal, 2009). El mapa contiene 63 marcadores (34 CAPs, 3 COSII [polimorfismo de partida de los parentales] y 26 SSRs) y consta de 12 grupos de ligamiento. La longitud total del mapa es de 363 cM y la distancia media entre marcadores es de 5,76 cM.
4. El mapeo comparativo entre distintos mapas de berenjena se realizó utilizando el mapa de Wu et al.(2008), donde se mapearon los mismos marcadores COSII. El estudio revela una colinealidad total entre ambos mapas. La comparación de estos dos mapas con el de tomate, Tomato-EXPEN 2000; *S. lycopersicum* LA925 x *S. pennellii* LA716, (Fulton et al., 2002), muestra como la distribución del genoma es homóloga salvo en los casos de inversiones existentes en los grupos de ligamiento 2 y 11, y las translocaciones observadas en los cromosomas 3, 4 y 11.
5. Comparando las secuencias obtenidas de los 37 marcadores mapeados con BACs secuenciados de tomate, se encontró homología en 19 de ellos. 11 de estos BACs están anotados. Esta información puede resultar útil en un futuro para poder

identificar los potenciales genes responsables de un carácter mediante mapeo posicional. Así, si un marcador está fuertemente ligado a un carácter y este presenta homología de secuencia con algún BAC anotado de tomate, se podría buscar allí el gen candidato responsable de ese carácter.

BIBLIOGRAFÍA



No tengas miedo a ser una minoría

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abú-Zacaría, 1802. (Obra original de mediados del s. XII). Libro de Agricultura. Imprenta Real, Madrid, 756 pp.
- Allard, J., 1996. L'aubergine au Japon. PHM Revue Horticole 374:55-56.
- Amar, Z., 2000. Giddule Erez-Yisra'el bime habenayim [Agricultural produce in the Land of Israel in the Middle Ages]. Jerusalem: Yad Izhak Ben-Zvi:274-277.
- Anis, M.; Baksh, S.; Ibal, M., 1994. Cytogenic studies on the F1 hybrid *Solanum incanum* x *S. melongena* var. American Wonder. Cytologia, 59: 443-436.
- Blanchette, M., Green, E.D., Miller, W. and Haussler, D., 2004 Reconstructing large regions of an ancestral mammalian genome in silico. Genome Res. 14: 2412–2423.
- Bowers, J. E., Meredith, C. P., 1997. The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. Nature Genet. 16: 84-87.
- Bowers, J., Boursiquit, J.M., This, P., Chu, K., Johansson H., Meredith, C. P., 1999. Historical genetics: The parentage of Chardonnay, Gamay, and other wine grapes of Northeastern France. Science 285: 1562-1565.
- Bunkeya, Z.R., Carasco, J.F., 1999. Ethnobotanical aspect of *Solanum* L. (*Solanaceae*) in Uganda. pp. 345-360. En: Nee, M., Symon, D.E., Lester, R.N., Jessop, J.P. (eds.). *Solanaceae* IV. Advances in Biology and Utilization, Royal Botanic Gardens, Kew.
- Cobo, B., 1964a. (Obra original de 1639). Obras de P. Bernabé Cobo. Vol. 1. La Fundacion de Lima. Ed. Atlas, Madrid, 439pp.
- Cobo, B., 1964b. (Obra original de 1653). Obras de P. Bernabé Cobo. Vol. 2. Historia del Nuevo Mundo. Ed. Atlas, Madrid, 515pp.
- Conselleria De Agricultura, Pesca y Alimentación, 2005. Informe del sector agrario valenciano. www.capa.com

- Chadha, M.L., 1993. Improvement of brinjal, en: *Advances in Horticulture Vol.5 – Vegetable Crops: Part 1*. Eds.: K.L. Chadha; G. Kallo. Malholtra Publishing House, New Delhi, India: 105-135.
- Choudhoury, M, Pal, R.N., Singh, H.P., 1976. Oxygen consumption of the spawn of *Anabas testudienus* (Bloch)., *J. Inlando Fish. Soc. India* 8: 140-142.
- Choudhoury, B., 1995a. Eggplant, pp. 464-465. En: Smartt, J., Simmonds, N.W. (eds). *Evolution of crop plants* Longman Scientific & Technical, Essex, Reino Unido.
- Choudhury, B., 1995b. Eggplant, en: *Evolution of crop plants*. Eds.: J. Smartt; N. W. Simmonds. Longman Scientific & Technical, Essex, Reino Unido: 446-465.
- D'arcy, W.G., 1975. The *Solanaceae*: an overview. *Solanaceae Newsl.*, 2: 8-15.
- D'arcy, W.G., Pickett, K.K., 1991. Salt water flotation of *Solanum* fruits and possible dispersal of eggplant. *Solanaceae Newsl.*, 3: 3-11.
- Daunay, M.C., 1996a., L'aubergine à travers les ages et les usages. *PHM Revue Horticole*, 374:35-36.
- Daunay, M.C., 1996b., Aubergine? Aubergines!. *PHM Revue Horticole*, 374: 48-49.
- Daunay, M.C., Lester, R.N., Ano, G., 1997. Les aubergines. En : *L'amélioration des planter tropicales*. Charrier, A., Jacquot, M., Hamon, S., Nicolas, D., eds. Cirad et Ortstom, Montpellier, Francia, pp. 83-107.
- Daunay, M.C., Lester, R.N., Ano, G., 2001a. Eggplant. pp. 199-221. En: Charrier, A., Jacquot, M., Hamon S., Nicolas, D. (eds.), *Tropical plant breeding*, Ed. CIRAD, SciencePublishers, Inc, Enfield (NH), USA, Plymouth, UK.
- Daunay, M.C., Lester, R.N., Gebhardt, C., Hennart, J.W., Jahn, M., Frary, A., Doganlar, S., 2001b. Genetic resources of eggplant (*Solanum melongena* L.) and allied species: a new challenge for molecular geneticists and eggplant breeders. pp. 251-274. En: van den Berg, R.G., Barendse, G.W.M., van der Weerden, G.M., Mariani. C. (eds.). *Solanaceae V. Advances in Taxonomy and Utilization*, Nijmegen University Press, Nijmegen, the Netherlands.

- Daunay, M.C. Janick, J., 2007. History and iconography of the eggplant. *Chronica Horticulturae*, 47(3):16-22.
- Daunay, M.C., 2008. Eggplant. pp. 163-220. En: Prohens, J., Nuez, F. (eds.). *Vegetables II*. Springer, New York.
- De Candolle, A., 1883. *Origine des plantes cultivees*. Librairie Germer Bailliere et Cie., Paris, 377 pp.
- Doganlar, S., Frary, A., Daunay, M.C., Lester, R.N., Tanksley, S.D., 2002a. Conservation of gene function in the Solanaceae as revealed by comparative mapping of domestication traits in eggplant. *Genetics* 161: 1713–1726.
- Doganlar, S., Frary, A., Daunay, M.C., Lester, R.N., Tanksley, S.D., 2002b. A comparative genetic linkage map on eggplant (*Solanum melongena*) and its implications for genome evolution on Solenaceae. *Genetics* 161:1697-1711.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11-15.
- Eisen, J. A., 1998. Phylogenomics: improving functional predictions for uncharacterized genes by evolutionary analysis. *Genome Res.* 8: 163–167.
- Enciclopedia Iránica, 1988. pp. 366-367. En: Routledge, Kegan, P. (eds.). *Badenjan, eggplant, aubergine*, Encyclopedia Iranica vol. III.4., London.
- Esquinas Alcázar, J., Nuez, F., 1995. Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate. pp. 13-42. En: Nuez, F. (ed.). *El cultivo del tomate*. Mundi Prensa, Madrid.
- FAO, 2007. Base de datos estadísticos. <http://faostat.fao.org>
- Fulton, T., Hoeven, R., Eannetta, N., Tanksley, D., 2002. Identification, Analysis, and Utilization of Conserved Ortholog Set Markers for Comparative Genomics in Higher Plants. *The Plant Cell*, Vol. 14, 1457-1467.

- Furini, A., Wunder, J., 2004. Analysis of eggplant (*Solanum melongena*)-related germplasm: morphological and AFLP data contribute to phylogenetic interpretations and germplasm utilization. *Theoretical and Applied Genetics*, 108:197-208
- Grubben, G.J.H., 1977. Eggplant. pp. 34-37. En: Tindall, H.D., Williams, J.T. (eds.). *Tropical Vegetables and their Genetic Resources*, IBPGR.
- Hancock, J. M., 1995. The contribution of slippage-like processes to genome evolution. *J. Mol. Evol.* 41: 1038-1047.
- Hedrick, U.P., 1919. Sturtevant's notes on Edible Plants, 27th Ann. Rep. New York Agr. Expt. Sta. Vol.2 part II. J.B. Lyon Co., Albany, New York.
- Heiser, C.B., 1969. *Nightshades, the paradoxical plants*. W.H. Freeman, San Francisco, California, 200 pp.
- Hurtado, M., 2009. Caracterización morfológica del retrocruce de *S. melongena* y *S. incanum*, y genotipado y desarrollo de mapa genético utilizando SSRs.
- Illescas, E., Vesperinas, E., 1989. *Tratado de horticultura herbácea*. Editorial Aedos. Barcelona. España. 325 pp.
- Isshiki, S., Okubo, H., Fujieda, K., 1994. Phylogeny of eggplant and related *Solanum* species constructed by allozyme variation. *Scientia Horticulturae*, 59:171-176.
- Jiménez de la Espada, M., 1965. (Varias obras escritas a finales del s. XVI). *Relaciones geográficas de Indias-Peru*. Vol. 2. Ed. Atlas, Madrid, 452pp.
- Karihaloo, J.L., Gottlieb, L.D., 1995. Allozyme variation in the eggplant, *Solanum melongena* L. (Solanaceae). *Theoretical and Applied Genetics*, 90:578-583.
- Karihaloo, J.L., Kaur, M., Singh, S., 2002. Seed protein diversity in *Solanum melongena* L. and its wild and weedy relatives. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49:533-539.
- Kaur, M., Singh, S., Karihaloo, J.L., 2004. Diversity of enzyme electrophoretic patterns in the eggplant complex. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 13:69-72.

- Khan, R., 1979. *Solanum melongena* and its ancestral form. pp. 629-636. En: Hawkes, J.G., Lester, R.N., Skelding, A.D., (eds.). The biology and taxonomy of the Solanaceae. The Linnean Society of London, London.
- Lester, R.N.; Hasan, S.M.Z., 1990. The distinction between *Solanum incanum* L. and *Solanum insanum* (Solanaceae). *Taxon*, 39: 521-523.
- Lester, R.N.; Hasan, S.M.Z., 1991. Origin and domestication of the brinjal eggplant, *Solanum melongena*, from *S. incanum*, in Africa and Asia, en: *Solanaceae* III: Taxonomy, chemistry, evolution. Eds.: J.G. Hawkes; Lester; M. Nee, N. Estrada. The Linnean Society of London, London: 369-387.
- Lester, R.N., Hawkes, J.G., 2001. Solanaceae. pp. 1790-1856. En: Hanelt, P. (ed.), *Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops*. Springer verlag, Berlin.
- Linneo, C., 1753. *Species plantarum*. Impensis Laurentii Salvii, Stockholm, Suecia. 525 pp.
- Lorenz, O.A., Maynard, D.N., 1998. *Handbook for vegetable growers*. John Wiley & Sons, New York, 456 pp.
- Manzur, J.P., 2009. Obtención y caracterización de marcadores microsatélites (SSRs) de berenjena (*Solanum melongena*) a partir de una genoteca genómica enriquecida.
- Mace, E.S., Lester, R.N., Gebhardt, C.G., 1999. AFLP analysis of genetic relationships among the cultivated eggplant, *Solanum melongena* L., and wild relatives (Solanaceae). *Theoretical and Applied Genetics*, 99:626-633.
- Ministerio De Agricultura, Pesca y Alimentación., 2007. Anuario de estadística agroalimentaria. www.mapa.com
- Mueller, A., Solow, H., Taylor, N., Skwarecki, B., Buels, R., Binns, J., Lin, C., Wright, M.H., Ahrens, R., Wang, Y., Herbst, E., Keyder, E., Menda, N., Zamir., D. and Tanksley, S.D., 2005. The SOL Genomics Network. A Comparative Resource for Solanaceae Biology and Beyond. *Plant Physiology* 138:1310-1317.
- Nadkarni, K.M., 1927. *Indian Materia Medica*. Bombay.

- Neff, M.M., Turk, E. and Kalishman, M., 2002. Web-based Primer Design for Single Nucleotide Polymorphism Analysis. *Trends in Genetics*, 18 613-615.
- Nuez, F., Carrillo, J.M. (Eds.), 2000. Los marcadores genéticos en la Mejora Vegetal. Ed. Universidad Politécnica de Valencia. 580 pp. (ISBN: 84-7721-945-1).
- Nuez, F., Prohens, J., Valcárcel, J.V., Fernández de Córdova, P., 2002. Colección de semillas de berenjena del Centro de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ministerio de Ciencia y Tecnología.
- Nunome, T., Yoshida, T., Iría, M., 1998. Genetic linkage map of eggplant. In proceedings of the 10th Escarpia Meeting on Genetics and Breeding of *Capsicum* and Eggplant, Avignon, France, 1998, pp 239-242.
- Nunome, T., Ishiguro, K., Yoshida, T., Hiría, M., 2001. Mapping of fruit shape and color development traits in eggplant (*Solanum melongena* L.) based on RAPD and AFLP markers. *Breed Sci* 51:19-26.
- Nunome, T., Suwabe, K., Iketani, H., Hiría, M., 2002. Identification and characterization of micrisatellites in eggplant. *Plant Breed Sci* 53:77-83.
- Nunome, T., Negoro, S., Kono, I., Kanamori, H., Miyatake, K., Yamaguchi, H., Ohyama, A. and Fukuoka, H., 2009. Development of SSR markers derived from SSR-enriched genomic library of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Springer* Vol. 119.
- Pearce, K., Lester, R.N., 1979. Chemotaxonomy of the cultivated eggplant – a new look the taxonomic relationship of the *Solanum melongena* L. En: Hawkes, J.G., Lester R.N., Skelding, A.D., Eds: *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. The Society of London, London, pp. 615-628.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., Rafalski A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germoplasm analysis. *Mol. Breeding* 2: 225-238.

- Prohens, J., Ruiz, J.J., Nuez, F., 1996. The pepino (*Solanum muricatum*, Solanaceae): A “new” crop with a history. *Economic Botany*, 50:355-368
- Prohens, J., Blanca, J., Nuez, F., 2005. Morphological and molecular variation in a collection of eggplant from a secondary center of diversity: implications for conservation and breeding. *Proceedings of the Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130:54-63.
- Quagliotti, L., 1979. Flora biology of capsicum and *Solanum melongena*. En: The biology and taxonomy of the Solanaceae. Hawkes, J.G., Lester, R.N., Skelding, A.D., Eds. The Linnean Society of London, London, pp. 399-419.
- Robinson, R.W., Shail, J.W., Yanxin, G., 2001. Interspecific hybridization of eggplant for *Verticillium* wilt resistance and other useful traits. pp. 279-291. En: van den berg, R.G., Barendse, G.W.M., van der Weerden, G.M., Mariani, C. (eds.). *Solanaceae V. Advances in Taxonomy and Utilization*. Pub. Nijmegen University Press.
- Rokas, A., Williams, B.L., King, N. and Carroll, S.B., 2003 Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. *Nature* 425: 798–804.
- Rongwen, J., Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A., Lavi, U., Cregan P.B., 1995. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theor Appl. Genet.* 90: 43-48.
- Rubatzky, V.E., Yamaguchi, M., 1996. *World vegetables: principles, production and nutritive values*. Chapman & Hall, New York, 843 pp.
- Sakata, Y., Nishio, T., Matthews, P.J., 1991. Chloroplast DNA analysis of eggplant (*Solanum melongena*) and related species for their taxonomic affinity. *Euphytica*, 55:21- 26.
- Sakata, Y., 1992. Taxonomic relationships between *Solanum melongena* (eggplant), *S. incanum* and *S. marginatum*, based on chloroplast DNA. *Proceedings of the 8th Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*: 278-282.
- Sakata, Y., Lester, R.N., 1994. Chloroplast DNA diversity in eggplant (*Solanum melongena*) and its related species *S. incanum* and *S. marginatum*. *Euphytica*, 80:1-4.

- Sakata, Y., Lester, R.N., 1997. Chloroplast DNA diversity in brinjal eggplant (*Solanum melongena* L.) and related species. *Euphytica*, 97:295-301.
- Sax, K., 1923. The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics*, 8: 552-560.
- Som, M.G., Maity, T.K., 1986. Brinjal. pp. 293-342. En: Bose, T.K., Som, M.G. (eds.). *Vegetable crops in India*. Naya Prokash, Calcuta, India.
- Stam, P., 1993. Construction of integrated genetic linkage maps by means of a new computer package: JoinMap. *The Plant Journal* 3:739-744.
- Staub, J. E., Serquen, F. C., Gupta, M., 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hortscience*, 31: 729-741.
- Sunseri, F., Sciancalepore, A., Martelli, G., Acciarri, N., Rotino, G.L., Valentino, D., Tamietti, G., 2003. Development of RADP-AFLP map of eggplant and improvement of tolerance to *Verticillium* wilt. In Hammerschlad FA, Saxena P (eds.) *Proceedings of the 26th IHC Biotechnology in Hort Crop Improvement*. Acta Hort 625, ISHS, pp 107-115.
- Tanksley, S. D., Young, N. D., Paterson, A. H., Bonierbale, M. W., 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Biotechniques* 7, 257-264.
- Tautz, D., Renz, M., 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res* 25: 4127-4138.
- Testolin, R., Marrazzo, T., Cipriani, G., Quarta, R., Verde, I., Dettori, M.T., Pancaldi, M., Sansavini, S., 2000. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. *Genome*. 43(3):512-20.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Holmes, M., Fritjers, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23:4407-4414.
- Watson, A.M., 1998. *Innovaciones en la agricultura en los primeros tiempos del mundo islámico*. Editorial de la Universidad de Granada, Granada, 372 pp.

- Weber, J. K., May, P. E., 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 388-397.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18:6531-6535.
- Wu, F., Mueller, L., Dominique, Crouzillat, D., Pétiard, V., and Tanksley, S.D., 2006. Combining Bioinformatics and Phylogenetics to Identify Large Sets of Single-Copy Orthologous Genes (COSII) for Comparative, Evolutionary and Systematic Studies: A Test Case in the Euasterid Plant Clade. *Genetics*, Vol. 174, 1407-1420.
- Wu, F., Eannetta, N., Xu, Y., and Tanksley S.D., 2008. A detailed synteny map of the eggplant genome based on conserved ortholog set II (COSII) markers. *Springer V.* 118.
- Zabeau, M., 1992. Selective restriction fragment amplification: A general method for AND fingerprinting. European patent 92402629.7.
- Zamir D., 2001. Improving plant breeding with exotic genetic libraries. *Nat Rev. Genet.* 2:983-989.