

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 015 723**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.02.2013** **E 13305205 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2025** **EP 2770059**

54 Título: **Resistencia a plaga de artrópodos en tomates**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
07.05.2025

73 Titular/es:

VILMORIN & CIE (100.00%)
4, quai de la Mégisserie
75001 Paris, FR

72 Inventor/es:

SNOEREN, TJEERD ADRIANUS LAMBERTUS;
SITBON, EINAT y
LEVY, DAVID

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 3 015 723 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Resistencia a plaga de artrópodos en tomates

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere a la tolerancia o resistencia en plantas de *Solanum lycopersicum*, también conocidas como *Lycopersicum esculentum*, a las plagas de artrópodos, especialmente a la polilla del tomate de Sudamérica, *Tuta absoluta*. De acuerdo con la invención, la resistencia o tolerancia se proporciona por las
10 secuencias de ADN, con introgresión de la *S. galapagense* en los sitios específicos correspondiente en el genoma de una planta de *S. lycopersicum*. Las secuencias con introgresión pueden estar presentes homocigota o heterocigotamente en el genoma de la planta de *S. lycopersicum*, y confieren tolerancia o resistencia a las plagas.

15 **Estado de la técnica**

La polilla del tomate sudamericana, *T. absoluta* (Lepidoptera—Gelechiidae también conocida como *Scrobipalpula absoluta*, *Scrobipalpuloides absoluta*, *Gnorimoschema absoluta*, y *Phthorimaea absoluta*) es una de las plagas más graves para las plantas solanáceas, especialmente tomates. De acuerdo con Maluf y colaboradores (Euphytica, 2010, 176:113-123), la *T. absoluta* es un insecto de distribución neotropical considerado como una de las principales plagas del tomate en varios países latinoamericanos, incluyendo Argentina, Chile, Perú, Bolivia, Ecuador, Colombia, Venezuela, Uruguay y Brasil. Se reportó por primera vez en el Europa en el 2006, en la provincia Española de Castellón, y desde entonces ha sido reportado en otras partes de España (Valencia, Ibiza, Almería, Murcia y Cataluña) y de la cuenca del Mediterráneo, incluyendo áreas productoras de tomate de Marruecos y Argelia, y más recientemente en Israel, Turquía, Siria, Alemania, Hungría, Lituania y Serbia.

La *T. absoluta* ataca las plantas en todas sus etapas de desarrollo, dañando el mesófilo de la hoja, tallos, ápices del tallo, flores y frutos. De acuerdo con Maluf y colaboradores, la oviposición de la *T. absoluta* es predominantemente en los folíolos (en las superficies tanto abaxiales como adaxiales) del tercio superior de la planta, pero también puede presentarse en los tallos y flores. La larva se alimenta predominantemente en el tejido del parénquima de la hoja, en las porciones tiernas de los tallos (especialmente los brotes axilares), y tanto en la fruta en desarrollo como madura. La minería de la hoja puede evolucionar hasta que todo el tejido del parénquima de las hojas se consume y solo quedan las venas de las hojas y excremento de insectos. El grave ataque de la lombriz intestinal puede provocar pérdidas en rendimiento de hasta 100%. La *T. absoluta* se considera de esta manera como un factor limitante para la producción de tomate en varios países de Latinoamérica, en donde representa aproximadamente
35 70% de las pérdidas y es una creciente preocupación en Europa.

El control de esta plaga requiere actualmente pesadas aplicaciones de insecticidas, sin embargo, se reporta el incremento de la resistencia de esta polilla a los insecticidas. Por otra parte, la fumigación en manta de los insecticidas es peligrosa tanto para el hombre como el medio ambiente.

Por lo tanto, la resistencia mejorada del tomate comercial contra la polilla al introducir atributos de resistencia a la antixenosis y/o antibiosis, o tolerancia mejorada, se aprecia cada vez más por los cultivadores comerciales. Hasta ahora tal resistencia o tolerancia en un tomate comercial no se ha reportado contra la polilla.

En este contexto, la resistencia varietal a la *T. absoluta* en los tomates puede ser un componente importante de programas de manejo de plagas. La resistencia a la *T. absoluta* se ha descubierto en varios ascensos de tomate silvestre, *inter alia* en *S. pennellii* (que corresponde a *L. pennellii*) LA716, *S. peruvianum* NAV29 y NAV 115, *S. habrochaites* (también llamado *L. hirsutum*) var. *glabratum* PI 134418 y PI 134417, *S. habrochaites* (también llamado *L. hirsutum*) var. *hirsutum* PI 127826, y *L. hirsutum* f. *typicum* LA1777 (Ecole, 2001). La resistencia en estas especies se cree que está mediada en gran medida por aleloquímicos con actividades de disociación de plagas, tal como metil-cetonas en PI 134417 (Maluf y colaboradores 1997), sesquiterpenos (zingiberene) en PI127826 (Azevedo y colaboradores 2003), y acilazúcares (acilglucosos, acilfructosos) en LA 716 (Resende y colaboradores 2006; Maluf y colaboradores 2010).

Estos ascensos se usaron extensamente para desarrollar líneas comerciales de *S. lycopersicum* con buenos niveles de resistencia a plagas, especialmente resistencia a *T. absoluta*. Maluf y colaboradores (2010a y 2010b) reportan estas líneas de reproducción pre-comerciales patentadas con altos contenidos de acilazúcares en la hoja, que representan resistencia a la polilla del tomate sudamericana *T. absoluta*. Las líneas sin embargo no son de *S. lycopersicum* comerciales. Por otra parte, el nivel de resistencia de estas líneas y combinaciones híbridas fabricadas con ellas es mucho menor que las de origen resistente. Las variedades híbridas no comerciales se han obtenido evidentemente hasta ahora de estas 3 líneas.

Algunos análisis de QTL llevados a cabo en la progenie de algunas cruces interespecíficas entre las ascensos de tomate silvestre resistente y *S. lycopersicum* se reportan en la literatura (Momotaz y colaboradores, 2010). Estos enfatizan principalmente la complejidad de los atributos de resistencia.

Por lo tanto, a pesar del trabajo intensivo en este aspecto y la importancia de la producción de tomate en el mundo, actualmente no se han obtenido cultivares de tomate resistentes a la polilla a través de la introgresión del atributo de un ascenso de tomate silvestre.

- 5 Erb y colaboradores, 1993 desvela la evaluación de híbridos F1 entre una planta de *L. cheesmanii* (LA1401) y una planta de *S. lycopersicum*, con respecto a su resistencia a *L. trifolii*. Sin embargo, no se ha desvelado ninguna planta de *S. lycopersicum* tolerante o resistente.

- 10 De manera similar, Simmons y colaboradores, 2005 desvela la evaluación de los efectos de los tricomas en híbridos F1 *L. esculentum* x *L. cheesmanii* f. *minor* y de *L. esculentum* x *L. pennellii* en la mortalidad de *M. persicae*. Sin embargo, no se ha desvelado ninguna planta de *S. lycopersicum* tolerante o resistente.

- 15 Las dificultades encontradas por los cultivadores que tratan de desarrollar variedades comerciales de las ascensos de tomate silvestre hasta ahora se han explicado por los atributos de resistencia complejos, ligaciones indeseables, o ambos, y han obstaculizado los esfuerzos para incorporar la resistencia a la polilla a las líneas de reproducción de *L. esculentum* y cultivares (ver Eigenbrode y colaboradores, 1993).

- 20 A fin de eludir estas dificultades, algunos autores han propuesto como una alternativa usar recursos genéticos de *S. lycopersicum* cultivada en los bancos de plasma germinal. De hecho, se hizo la hipótesis de que la ausencia de la variedad de tomate cultivada conocida resistente a *T. absoluta* se podría asociar con la variabilidad genética reducida introducida durante la domesticación del tomate, conduciendo la pérdida de genes que controlan la producción de aleloquímicos implicados en las defensas de la planta. La recuperación de esta variabilidad genética perdida se esperó de esta manera que mejore la resistencia de la planta las plagas y enfermedades (Oliveira y colaboradores, 2009). A partir de este estudio, solo dos de 57 ascensos parecieron que representan una resistencia supuestamente prometedora. La transferencia de los factores de resistencia de estas ascensos al tomate comercial sin embargo no se ha llevado a cabo y no se han obtenido cultivares comerciales resistentes hasta la fecha.

- 30 Villalta y colaboradores, 2007 desvela un análisis de QTL de la producción de fruto del tomate, en condiciones de irrigación tanto salinas como no salinas, de dos poblaciones de líneas F7, procedentes de un cruce entre un progenitor femenino de *S. lycopersicum* y una línea de *S. pimpinellifolium* o *S. cheesmaniae* como progenitor masculino. Sin embargo, no hay ninguna divulgación de resistencia a los artrópodos.

- 35 De esta manera existe una necesidad importante en la técnica para identificar una fuente confiable de resistencia o tolerancia, que se podría usar para obtener plantas comerciales resistentes o tolerantes, y una necesidad por plantas de *S. lycopersicum* comerciales mejoradas que sean resistentes a las infestación de *T. absoluta*.

- 40 La presente invención proporciona plantas de *S. lycopersicum* comerciales que muestran tolerancia o resistencia importante a la infestación de *T. absoluta*, así como métodos que identifican las plantas o poblaciones de *S. lycopersicum* (plasma germinal) que muestran resistencia a la infestación de *T. absoluta*. La presente invención también describe marcadores genéticos moleculares, especialmente SNPs, ligados a los sitios de resistencia.

Objeto de la invención

- 45 Los presentes inventores ha identificado un ascenso de tomate silvestre en *S. galapagense* (también conocida como *L. cheesmanii*) que muestra una tolerancia o resistencia importante a la infestación de *T. absoluta* y han sido capaces de aplicar introgresión a en el fondo de la *S. lycopersicum* de las secuencias de *S. galapagense* confiriendo esta resistencia y/o tolerancia, obteniendo de esta manera tomates comerciales resistentes y/o tolerantes a las plagas de artrópodos, especialmente al *T. absoluta*.

- 50 En este proceso, los presentes inventores han identificado una fuente de resistencia al *T. absoluta* que nunca se ha sometido a prueba antes, particularmente en un ascenso de *S. galapagense*. Por otra parte, en la transferencia de las secuencias de resistencia, los inventores han hecho los principales pasos de selección sobre la base de la resistencia a *T. absoluta* y han determinado el mejor parámetro para ser seguido para esta selección.

- 55 De hecho cabe destacar, en la anterior, que no se ha llevado a cabo una selección directa para la resistencia a plagas en programas para introgresión de resistencia a artrópodos en los cultivares de tomate debido a las dificultades en mantener las infestaciones uniformes necesarias para seleccionar la resistencia y debido a que la selección directa para la resistencia a plagas es usualmente un proceso costoso y lento. Por lo tanto, la técnica anterior está repleta con técnicas de selección indirectas, basadas generalmente en los atributos correlacionados con alta heredabilidad para acelerar la introgresión, especialmente la presencia de aleloquímicos dados o tipo de tricomas.

- 60 Sin embargo, durante el proceso de selección de las líneas e híbridos sobre la base de alto contenido aleloquímico solamente, otros atributos relacionados con resistencia que están presentes en las ascensos silvestres se pierde probablemente y de esta manera no se recuperan en las líneas seleccionadas e híbridos. Los programas de introgresión descritos en la técnica anterior, de esta manera no han logrado proporcionar un alto nivel de resistencia

en la línea o variedad de tomates comerciales.

Por selección directa en el nivel de la resistencia a plagas, los presentes inventores han sido capaces de aplicar introgresión a las secuencias de *S. galapagense* principales responsables por la resistencia, y no solo un subconjunto que confiere solo resistencia insuficiente. Esta selección directa se ha hecho posible gracias a la identificación de los mejores parámetros a ser seguidos durante la selección de las plantas resistentes. En este aspecto, cabe destacar que la técnica anterior describe numerosos parámetros diferentes, tales como huevos de artrópodos y conteos de descendencia, número de minas grandes por hoja, número de minas pequeñas por hoja, porcentaje de hojas minadas, daño total de la planta, tipo de lesión de los folíolos, porcentaje de folíolos atacados, daños total de la hoja, y supervivencia a insectos. Sin identificación previa del parámetro más potente, la selección directa no fue factible puesto que la naturaleza de la resistencia no es totalmente clara, probablemente a la no preferencia de combinación, antibiosis, antixenosis y tolerancia.

Los inventores han detectado de hecho la varianza entre líneas en términos de números de folíolos por hoja marcada total alimentada en (PLA) y la cantidad total del tejido de la planta alimentado en (OPD). Esta observación podría verse provocada por diferencias en la cantidad de huevos a que la planta se expuso o la calidad del tejido de la hoja alimentado. La cantidad de huevos se ha descartado por los inventores, puesto que los conteos de huevos por hojas marcadas no indicaron diferencias entre líneas. De esta manera, el único factor causal para la no preferencia es la calidad del tejido de la hoja que incluye negativamente en el comportamiento de alimentación de la plaga, y especialmente la polilla del tomate sudamericana. Sobre la base de la clasificación de PLA, las plantas de acuerdo con la invención presentan de esta manera una tolerancia o resistencia mejorada a las plagas de artrópodos por comparación con cualquier planta de *S. lycopersicum* comercial, todos los tomates comerciales antes de la presente invención de hecho son susceptibles a las plagas de artrópodos, especialmente a la *T. absoluta*.

De acuerdo con un primer aspecto, la presente invención se dirige de esta manera a una planta de *S. lycopersicum*, que es tolerante o resistencia a una plaga de artrópodos, que comprende en su genoma secuencias con introgresión o intervalos de *S. galapagense* que confieren resistencia a la plaga de artrópodos. El término "Resistencia" es como se define por la sección de cultivos Vegetales y Ornamentales ISF (Federación de Semillas Internacional) para describir las reacciones de las plantas a las plagas o patógenos, y estreses abióticos para la Industria de Semillas Vegetales.

Específicamente, por resistencia, se propone la capacidad de una variedad de planta a restringir el crecimiento y desarrollo de una plaga especificada o patógeno y/o el daño que provocan cuando se comparan a variedades de plantas susceptibles bajo condiciones ambientales similares y presión de plaga o patógeno. Las variedades resistentes pueden mostrar algunos síntomas de enfermedad o daño bajo presión pesada de plagas o patógenos.

La resistencia a insectos se refiere a interacciones de insecto-planta que comprenden respuestas de insectos y características de plantas,

- Sin preferencia: se refiere a la respuesta de insectos que se someten a las características de la planta que conducen lejos del uso de una planta particular para oviposición, para alimento o para albergue, o para combinaciones de los tres.
- Antixenosis: se refiere a las características de la planta que provocan una respuesta negativa o total evitación total por los insectos.
- Antibiosis: se refiere a las características de la planta que afectan adversamente la fisiología de una especie de insecto herbívoro. Estas propiedades de la planta indican fecundidad reducida, tamaño o disminuido, longevidad reducida e mortalidad incrementada de la especie de insecto de plaga (Schoonhoven y colaboradores 1998).

Por tolerancia se propone la capacidad de una variedad de planta para soportar estrés biótico y abiótico sin consecuencias serias para el crecimiento, apariencia y rendimiento.

Susceptibilidad: La incapacidad de una variedad de plantas a restringir el crecimiento y desarrollo de una plaga o patógeno especificado. Las plantas de por ejemplo las líneas Rehovot-13 (LYCO2), Komeett, Plaisance o F1 Daniela (HA144) son susceptibles a las plagas de *S. lycopersicum*. Una planta de acuerdo con la invención tiene de esta manera al menos resistencia o tolerancia mejorada con respecto a estas plantas, y más generalmente con respecto a cualquier variedad comercial de tomate.

Por introgresión, se propone la infiltración de los genes de secuencias genómicas de una especie en la acumulación de genes u otra de un híbrido interespecífico inicial entre estas especies. Con respecto a las secuencias con introgresión o intervalos de *S. galapagense* que confieren la tolerancia o resistencia en *S. lycopersicum*, se eligen de aquellas presentes en el genoma de una planta de la semilla de tomate TUT115. Una muestra de esta semilla de tomate se ha depositado por Hazera Genetics Ltd, Berurim, M.P. Shikmim 79837, Israel, conforme a, y en satisfacción de, los requisitos del Tratado de Budapest en el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos para los Propósitos de Procedimientos de Patentes (el "Tratado de Budapest") con la recolección Nacional de Bacterias Industriales, Alimenticias y Marinas (NCIMB), (NCIMB Ltd, Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen AB21 9YA, Reino Unido), el 11 de Febrero de 2013, bajo el número de acceso

NCIMB42109.

Un depósito de esta semilla de tomate se mantiene por Hazera Genetics Ltd, Berurim, M.P. Shikmim 79837, Israel.

Las semillas depositadas y las plantas de las mismas se han obtenido de una cruce interespecífica inicial entre una planta de *S. galapagense* GALA1, es decir el socio de introgresión que muestra el fenotipo de interés, y una planta de la línea *S. lycopersicum* LYCO1, la precursora susceptible recurrente. Las semillas depositadas representan de esta manera un depósito de secuencias con introgresión de *S. galapagense* en el genoma de *S. lycopersicum*. Las secuencias con introgresión que confieren resistencia y/o tolerancia a los artrópodos de plaga de acuerdo con la invención se eligen de este depósito.

De manera preferente, una planta de *S. lycopersicum* de acuerdo con la invención es una planta o línea comercial. Tal planta o línea comercial también muestra resistencia a ToMV (virus del mosaico del tomate), por ejemplo debido a la presencia de un gen de resistencia a *Tm-2* (alelo *Tm-2* o *Tm-2²* (también conocido como *Tm-2^a*)) o *Tm-1*, que también confiere resistencia a TMV (Virus del Mosaico del Tabaco). Una planta de acuerdo con este aspecto de la invención tiene de manera preferente también las siguientes características adicionales: atributo de resistencia a nematodos (Mi-1 o Mi-j).

Por otra parte, la planta comercial de la invención da origen a frutas en condiciones adecuadas, que son de al menos 10 gramos en madurez, de manera preferente de al menos 25 g en madurez completa y aún de manera más preferente 50 g en madurez completa.

Con respecto al fenotipo deseado, es decir tolerancia o resistencia a la plaga de artrópodos, de una planta de acuerdo con la invención, tal fenotipo se confiere por las secuencias con introgresión o intervalos de *S. galapagense*, elegidas de las secuencias con introgresión encontradas en el genoma de las plantas depositadas TUT115. Las secuencias con introgresión o intervalos pueden formar parte de fragmentos de introgresión más grandes de *S. galapagense* en el genoma de una planta de *S. lycopersicum* de la invención.

Los fragmentos de introgresión o intervalos con introgresión de *S. galapagense* que comprenden secuencias que confieren resistencia o tolerancia a la plaga se pueden encontrar de manera preferente en los cromosomas 1, 5, 6, 9 y 12 de una planta de *S. lycopersicum* de la invención.

Las secuencias con introgresión se eligen entre las presentes en el genoma de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 e incluyen:

- i. el fragmento correspondiente al comprendido entre los SNP solcap_snp_sl_59890 y solcap_snp_sl_15339 en el cromosoma 1 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 y/o
- ii. el fragmento correspondiente al comprendido entre los SNP solcap_snp_sl_40154 y EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 y/o
- iii. el fragmento correspondiente al comprendido entre los SNP EE_4363_LC7656 y SL10539_786_LC7260 en el cromosoma 6 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 y/o
- iv. el fragmento correspondiente al comprendido entre los SNP EP_0489_LC7684 y EE_1452 en el cromosoma 9 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 y/o
- v. el fragmento correspondiente al comprendido entre los SNP SL10204_1269 y EE_0924 en el cromosoma 12 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109,

en donde las secuencias flanqueantes 5' y 3' de solcap_snp_sl_59890 son SEQ ID No: 41 y SEQ ID No: 42 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de solcap_snp_sl_15339 son SEQ ID No: 35 y SEQ ID No: 36 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de solcap_snp_sl_40154 son SEQ ID No: 39 y SEQ ID No: 40 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EP_1592_LC7762 son SEQ ID No: 5 y SEQ ID No: 6 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EE_4363_LC7656 son SEQ ID No: 9 y SEQ ID No: 10 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de SL10539_786_LC7260 son SEQ ID No: 47 y SEQ ID No: 48 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EP_0489_LC7684 son SEQ ID No: 43 y SEQ ID No: 44 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EE_1452 son SEQ ID No: 25 y SEQ ID No: 26 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de SL10204_1269 son SEQ ID No: 19 y SEQ ID No: 20 respectivamente y las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EE_0924 son SEQ ID No: 23 y SEQ ID No: 24 respectivamente.

De acuerdo con un aspecto no reivindicado, los fragmentos de introgresión y de esta manera las secuencias con introgresión que confieren resistencia y/o tolerancia a las plagas de artrópodos se van a encontrar en uno o más de los siguientes sitios:

- a) Sitio que abarca el SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 1 y SEQ ID No: 2, respectivamente;
- b) Sitio que abarca el SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 3 y SEQ ID No: 4, respectivamente;

- c) Sitio que abarca el SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 5 y SEQ ID No: 6, respectivamente;
- d) Sitio que abarca el SNP EE_0301 en el cromosoma 5, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 7 y SEQ ID No: 8, respectivamente;
- e) Sitio que abarca el SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 9 y SEQ ID No: 10, respectivamente;
- f) Sitio que abarca el SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 11 y SEQ ID No: 12, respectivamente;
- g) Sitio que abarca el SNP EP_0502 en el cromosoma 9, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 13 y SEQ ID No: 14, respectivamente;
- h) Sitio que abarca el SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 15 y SEQ ID No: 16, respectivamente;
- i) Sitio que abarca el SNP EE_2332 en el cromosoma 9, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 17 y SEQ ID No: 18, respectivamente;
- j) Sitio que abarca el SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 19 y SEQ ID No: 20, respectivamente;
- k) Sitio que abarca el SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 21 y SEQ ID No: 22, respectivamente; y
- l) Sitio que abarca el SNP EE_0924 en el cromosoma 12, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 23 y SEQ ID No: 24, respectivamente.

Los 12 SNPs mencionados en lo anterior son referidos en lo siguiente como los 12 SNPs de la invención. Su localización en la construcción de la secuencia del genoma de tomate SL2.40 se indica en la tabla 7, y sus secuencias de flanqueo se ilustran en la tabla 10.

Sobre la base de la versión del genoma del tomate SL2.40, las secuencias con introgresión se van a encontrar en uno o más de los siguientes 12 sitios:

- a) Sitio que abarca la posición 68 232 900 en el cromosoma 1,
- b) Sitio que abarca la posición 72 528 600 en el cromosoma 1,
- c) Sitio que abarca la posición 83 766 400 en el cromosoma 1,
- d) Sitio que abarca la posición 3 636 270 en el cromosoma 5,
- e) Sitio que abarca la posición 166 755 en el cromosoma 6,
- f) Sitio que abarca la posición 22 094 800 en el cromosoma 9,
- g) Sitio que abarca la posición 41 847 000 en el cromosoma 9,
- h) Sitio que abarca la posición 49 173 600 en el cromosoma 9,
- i) Sitio que abarca la posición 54 692 600 en el cromosoma 9,
- j) Sitio que abarca la posición 124 598 en el cromosoma 12,
- k) Sitio que abarca la posición 155 493 en el cromosoma 12 y
- l) Sitio que abarca la posición 1 166 000 en el cromosoma 12.

Por "secuencias con introgresión o intervalos de *S. galapagense* en un sitio dado" o "secuencias con introgresión o intervalos de *S. galapagense* presentes/encontrados en un sitio dado", se va a entender que el intervalo genómico encontrado en este sitio dado tiene la misma secuencia como el intervalo genómico encontrado en el donador de *S. galapagense*, el socio de introgresión, en el mismo sitio; de esta manera al menos el alelo del SNP es el alelo encontrado en el genoma del donador de *S. galapagense*, y que la región de flanqueo 5', o la región de flanqueo 3', o ambas, se indican a las secuencias de *S. galapagense* en esta región. Por lo tanto, el SNP puede formar parte del límite 3' o límite 5' del intervalo con introgresión, o puede estar dentro del intervalo con introgresión que confiere el fenotipo deseado.

De manera preferente, las secuencias o intervalos con introgresión de *S. galapagense* no son tan largas a fin de evitar la introgresión de las características no comerciales asociadas con el genotipo de *S. galapagense*.

Dichas secuencias con introgresión se minimizan para contener tan pocas secuencias como sea posible no relacionadas con el fenotipo deseado.

Las secuencias de con introgresión en los sitios mencionados en lo anterior constituyen de esta manera los Sitios de Atributo Cuantitativos (QTL) que subyacen al atributo deseado.

Con respecto a las secuencias con introgresión o intervalos de *S. galapagense* que confieren la tolerancia o resistencia, se eligen de aquellos presentes en el genoma de una planta que corresponden al material depositado TUT115 (NCIMB 42109) en los sitios correspondientes. Las plantas que corresponden al material depositado tienen de hecho secuencias con introgresión del donador de *S. galapagense* GALA1 en los 12 sitios.

Una planta de acuerdo con esta modalidad abarca de esta manera en su genoma secuencias con introgresión de *S. galapagense* en un sitio o más de los 12 sitios citados en lo anterior; tal planta presenta de esta manera el alelo

específico del donador de *S. galapagense* para al menos uno de los 12 SNPs citados en lo anterior. Una planta de la invención tiene de esta manera al menos uno de los siguientes alelos: alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1; alelo C de SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, alelo T de SNP EE_0301 en el cromosoma 5, alelo G de SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, alelo A de SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9; alelo C de SNP EP_0502 en el cromosoma 9, alelo A de SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, alelo T de SNP EE_2332 en el cromosoma 9, alelo C de SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12 y alelo T de SNP EE_0924 en el cromosoma 12.

De manera preferente, los 12 SNPs detallados para la primera modalidad se usa como marcadores para la detección de la secuencia introgresada de *S. galapagense*.

Los 12 marcadores de SNP de acuerdo con el primer aspecto no reivindicado son sitios marcadores ligados a las regiones cromosómicas o QTL que se implican en o se asocian con el fenotipo de tolerancia o resistencia. El alelo de estos marcadores indica de esta manera si las secuencias que circundan que circundan los marcadores son con introgresión de *S. galapagense* o no, secuencias con introgresión en este sitio que se correlaciona con la resistencia o tolerancia a la plaga de artrópodos mientras que las secuencias de *S. lycopersicum* en este sitio no son indicativas de resistencia o tolerancia a las plagas de artrópodos.

Con respecto a la QTL o regiones cromosómicas marcadas por los SNPs de la invención, y correlacionado con el fenotipo, una sola de esta región cromosómica puede impartir el fenotipo deseado. De acuerdo con la invención, se prefiere que al menos dos y de manera preferente varias de las regiones cromosómicas estén presentes en una planta de la invención, como es determinado por los marcadores de SNP detallados en lo anterior. De hecho, cuando más de estos marcadores estén presentes en una planta de la invención, más de una planta se puede esperar que tenga tolerancia o resistencia a la plaga de artrópodos. Además, cuando más de estos marcadores estén presentes, más tolerancia está en las plantas.

De hecho, ya que las secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren resistencia a las plagas se pueden marcar por los alelos específicos de los marcadores de SNP de la invención, una planta de la invención tiene al menos uno de los siguientes alelos: alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1; alelo C de SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, alelo T de SNP EE_0301 en el cromosoma 5, alelo G de SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, alelo A de SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9; alelo C de SNP EP_0502 en el cromosoma 9, alelo A de SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, alelo T de SNP EE_2332 en el cromosoma 9, alelo C de SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12 y alelo T de SNP EE_0924 en el cromosoma 12; y de manera preferente al menos 2, o 3, 4, 5, 6, 8, 10 de los alelos. La combinación de alelos puede ser cualquier combinación de los alelos citados en lo anterior.

Las combinaciones preferidas de alelos que corresponden *inter alia* a las combinaciones de los SNPs encontrados en el mismo cromosoma, por ejemplo alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348 y alelo C de SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, o la combinación de alelo A de SNP CL016475-0340; alelo C de SNP EP_0502, alelo A de SNP EE_4969_LC7529 y alelo T de SNP EE_2332 en el cromosoma 9, o la combinación del alelo C de SNP SL10204_1269, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 y alelo T de SNP EE_0924 en el cromosoma 12. Otras combinaciones también previstas en el contexto de la invención combinan al menos un alelo en cada uno de los cromosomas implicados 1, 5, 6, 9 y 12, por ejemplo alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, alelo T de SNP EE_0301 en el cromosoma 5, alelo G de SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, alelo A de SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9 y alelo C de SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, o alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1; alelo T de SNP EE_0301 en el cromosoma 5, alelo G de SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, alelo C de SNP EP_0502 en el cromosoma 9 y alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12.

De acuerdo con una modalidad preferida, una planta de acuerdo con la invención muestra secuencias con introgresión de *S. galapagense*, en al menos uno de los cromosomas 1, 5, 6, 9 y 12, de manera preferente en al menos dos de los cromosomas, y de manera preferente al menos 3 o 4, o en los 5 cromosomas, en los sitios definidos en lo anterior.

La planta de *S. lycopersicum* de la invención comprende, introgresada en su genoma, una región cromosómica o fragmento de *S. galapagense*, que confiere resistencia o tolerancia a la plaga de artrópodos, especialmente a la infestación de *T. absoluta*. Tal región cromosómica o fragmento corresponde a o incluye:

- i. La región delimitada por los SNPs solcap_snp_sl_59890 y solcap_snp_sl_15339 en el cromosoma 1 de una planta que corresponde al material depositado, número de acceso NCIMB 42109; tal región comprende *inter alia* los siguientes SNPs: solcap_snp_sl_19066, solcap_snp_sl_14042, solcap_snp_sl_18619, solcap_snp_sl_12348, EP_0180_LC7488, EE_2741_LC7681 y EP_0350_LC6805,
- ii. La región delimitada por los SNPs solcap_snp_sl_40154 y EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1 de una planta que corresponde al material depositado, número de acceso NCIMB 42109,

- iii. La región delimitada por los SNPs EE_4363_LC7656 y SL10539_786_LC7260 en el cromosoma 6 de una planta que corresponde al material depositado, número de acceso NCIMB 42109; tal región comprende *inter alia* los siguientes SNPs: IL3_2569_LC7566, EE_1008_LC7515, solcap_snp_sl_65595, solcap_snp_sl_32320, solcap_snp_sl_30498, solcap_snp_sl_30511, solcap_snp_sl_31156, SL10187_425, Le004790_246, EP_0572_LC7445, EE_2362, SL10768_133, EE_2996 y solcap_snp_sl_14452,
- iv. La región delimitada por los SNPs EP_0489_LC7684 y EE_1452 en el cromosoma 9 de una planta que corresponde al material depositado, número de acceso NCIMB 42109; tal región comprende *inter alia* los siguientes SNPs: SL10004_409_LC7341, IL2_5178, EE_1577_LC7366, EE_1758_LC7427, CL016475-0340, EP_0502, EE_4969_LC7529, EE_2332, IL2_1262, EE_1817_LC6849, EE_3482_LC7808 y EE_5152_LC7199,
- v. La región delimitada por los SNPs SL10204_1269 y EE_0924 en el cromosoma 12 de una planta que corresponde al material depositado, número de acceso NCIMB 42109; tal región comprende *inter alia* el SNP SGN-U573565_snp665.

Una planta de acuerdo con la invención comprende, con introgresión en su genoma, al menos un fragmento cromosómico que tiene las secuencias de *S. galapagense* y que corresponden a y que comprenden una de las regiones cromosómicas citadas en lo anterior. En una modalidad más preferida, una planta de la invención comprende al menos dos fragmentos cromosómicos que corresponden o que comprenden al menos dos de las regiones citadas en lo anterior, o de manera preferente al menos 3 o 4. De manera más preferente, una planta de la invención comprende, con introgresión en su genoma, secuencias que corresponden a o que comprenden las 5 regiones cromosómicas definidas en lo anterior.

Las regiones cromosómicas con introgresión de *S. galapagense* están presentes en el genoma de las plantas de las semillas depositadas (depositadas en el NCIMB bajo el número de acceso 42109) y de esta manera se pueden definir con respecto a estas plantas.

De manera preferente, una planta de la invención no comprende ningún fragmento de introgresión de *S. galapagense* en un cromosoma diferente de los cromosomas 1, 5, 6, 9 y 12.

Las secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren resistencia y/o tolerancia a la plaga de artrópodos de acuerdo con la presente invención están de manera preferente homocigotamente presentes en el genoma de una planta. Por consiguiente, tal planta muestra de manera preferente, en ambos homólogos del cromosoma 1, y/o del cromosoma 6, y/o del cromosoma 9 y/o del cromosoma 12, secuencias con introgresión de *S. galapagense* capaces de conferir resistencia o tolerancia a la plaga de artrópodos. Se debe tener en cuenta que de esta manera esto no implica necesariamente que los fragmentos de introgresión de *S. galapagense* en ambos homólogos del cromosoma sean idénticos. De hecho, uno del homólogo puede comprender solo las secuencias con introgresión necesarias y suficientes para conferir resistencia o tolerancia, mientras que el otro homólogo comprende un fragmento de introgresión más grande, que comprende las secuencias además de las secuencias adicionales de *S. galapagense* no relacionadas con la resistencia o tolerancia. Por lo tanto, una planta de la invención es homocigota a al menos uno de los siguientes alelos: alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1; alelo C de SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, alelo G de SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, alelo A de SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9; alelo C de SNP EP_0502 en el cromosoma 9, alelo A de SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, alelo T de SNP EE_2332 en el cromosoma 9, alelo C de SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12 y alelo T de SNP EE_0924 en el cromosoma 12, y de manera preferente homocigota para todos estos alelos.

Alternativamente, de acuerdo con otra modalidad de la presente invención, una planta comprende secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren el atributo deseado en solo uno de los dos homólogos de cromosoma, es decir las secuencias con introgresión que confieren resistencia o tolerancia están presentes heterocigotamente en el genoma de tal planta.

La tolerancia o resistencia mejoradas a la plaga de artrópodos se determina ventajosamente por comparación con una línea susceptible (comercial), por ejemplo las plantas de tomate Rehovot-13 (*LYCO2*). Se determina de manera preferente sobre la base de la clasificación de Porcentaje de Foliolos Atacados. Los presentes inventores han identificado de hecho esta clasificación como el mejor criterio para representar la tolerancia o resistencia de las plantas hacia los ataques de *T. absoluta*. De manera preferente, este criterio se determina pocos días después de la infestación; un límite de tiempo perfectamente adecuado es entre 3 a 15 después de la infestación por la plaga, por ejemplo 8 días después de la infestación.

La tolerancia o resistencia a la plaga de artrópodos se determina por ejemplo a los 8 días después de la exposición a la población de plaga, y se considera como "mejorada" si la diferencia entre el plan de prueba y una planta susceptible es una reducción significativa de la PLA. Por "significativo", se propone una reducción que significa que es significativa desde un punto de vista estadístico de manera preferente, la reducción significativa es una reducción de al menos 5% de la PLA para la planta de prueba; de manera preferente, la reducción es de al menos 10% o aún de manera preferente una reducción por casi 25 o 30%. Las plantas obtenidas por los inventores como se describen

en la sección experimental muestran una reducción de al menos 50% de la PLA determinada a los 8 días después de la infestación.

Por lo tanto, una planta de acuerdo con la invención muestra de manera preferente un registro PLA a los 8 días después de la exposición a la población de plaga que se reduce por al menos 30%, de manera preferente al menos 50% y de manera mucho más preferente al menos 70% con respecto a una línea de susceptible *S. lycopersicum* comercial susceptible. Con respecto a las condiciones experimentales para clasificar la PLA, se detallan condiciones adecuadas potenciales en la sección experimental de la presente invención. Particularmente, la PLA se registra de manera preferente en un invernadero o un invernadero con malla, en presencia de una población de plagas abundante. Las condiciones climáticas en el invernadero son condiciones típicas para el cultivo de tomate. El registro PLA se determina de acuerdo con la escala definida en Maluf y colaboradores 1997, y detallada en la sección experimental.

Otros criterios tales como los criterios LLT (Tipo de Lesión de los Foliolos) y OPD (Daño Total de la Planta), como se define en la sección experimental, se pueden usar alternativamente. Se usan de manera preferente además de la clasificación PLA, por ejemplo para reforzar la confianza en los marcadores detectados. Una planta de acuerdo con la invención es de manera preferente una planta que se deriva de una planta desarrollada de la semilla depositada bajo el número de acceso NCIMB 42109, por ejemplo una planta derivada de una de la semilla depositada por una o varias cruza posteriores a una línea de *S. lycopersicum*. Una progenie de una planta obtenida de la semilla depositada se puede identificar por una persona experta en la técnica, por ejemplo por comparación de los bordes de introgresión. De hecho, la especificidad de la localización de los bordes de introgresión permite la detección de las plantas que se derivan de las plantas depositadas.

Una planta de la invención también es ventajosamente obtenible por un proceso que comprende una cruce inter-específica entre un precursor de *S. galapagense* y un precursor de *S. lycopersicum*, seguido por al menos un paso de autofecundación y al menos dos pasos de retrocruzamiento, mientras que la progenie se selecciona en cada etapa sobre la base de uno o más de los alelos de los marcadores que marcan los 12 sitios; es decir SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1, SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, SNP EE_0301 en el cromosoma 5, SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9, SNP EP_0502 en el cromosoma 9, SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, SNP EE_2332 en el cromosoma 9, SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12 y SNP EE_0924 en el cromosoma 12.

Tal proceso se describe con más detalle a continuación.

En una modalidad adicional de la invención, las plantas como se definen son resistentes o tolerantes a la plaga de artrópodos en donde los artrópodos son más específicamente artrópodos de insectos, Lepidóptera o Hemíptera *inter alia*, o artrópodos de ácaros.

Los artrópodos particularmente preferidos en el contexto de la presente invención son polillas del tomate, y especialmente la polilla sudamericana *T. absoluta*.

Alternativamente, las plantas de acuerdo con la invención son resistentes o tolerantes a uno o más de los siguientes artrópodos: afidos, mosca blanca, tisanópteros, minadores de las hojas (*Liriomyza*), orugas (Spodoptera), psíidos de tomate, arañas roja, ácaros rojizos y nematodos, además de o en lugar de resistencia a *T. absoluta*. De manera preferente, una planta de la invención es simultáneamente resistente a polillas del tomate, moscas blancas, arañas rojas, ácaros y tisanópteros de tomate Russet.

De acuerdo con un segundo aspecto, la presente invención se dirige a partes de una planta como se define de acuerdo con el primer aspecto de la invención, particularmente las partes de una planta resistentes o tolerantes a una plaga de artrópodos debido a la presencia en su genoma de secuencias con introgresión de *S. galapagense*.

Una parte de una planta es de manera preferente una célula de planta; la invención de esta manera se refiere a una célula de planta de *S. lycopersicum* que comprende su genoma secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren resistencia a la plaga de artrópodos, en uno o más de los 12 sitios.

Las diferentes características de las secuencias con introgresión se han definido en relación con el primer aspecto de la invención y aplican *mutatis mutandis* a este aspecto de la invención. Las secuencias con introgresión se eligen de esta manera preferiblemente de aquellas presentes en el genoma de una planta que corresponde al material depositado TUT115 (número de acceso NCIMB 42109).

Una célula de planta de acuerdo con la invención puede comprender fragmentos de introgresión que corresponden a o que incluyen una o más de las 5 regiones i) a v) definidas con respecto al primer aspecto de la invención.

De manera preferente, una célula de planta de la invención no comprende secuencias con introgresión de *S. galapagense* en los cromosomas diferentes a los cromosomas 1, 5, 6, 9 y 12.

Una célula de planta de la invención puede tener la capacidad de ser regenerada en una planta entera. Alternativamente, la invención también se dirige a células de planta que no se pueden regenerar, de esta manera no son capaces de dar origen a una planta entera.

De acuerdo con otra modalidad, la parte de la planta es cualquier otra parte de una planta de la invención, puede ser en particular semillas, material reproductor, raíces, flores, rútas, rizoma o soleo. Tal parte comprende una célula como se define en lo anterior, es decir que tiene las secuencias con introgresión de *S. galapagense* capaces de conferir resistencia o tolerancia a la plaga de artrópodos a una planta de *S. lycopersicum*.

Todas las modalidades preferidas detalladas en la sección anterior en relación con el primer aspecto de la invención también son modalidades preferidas de acuerdo con este segundo aspecto de la invención.

La invención se refiere más particularmente a la semilla de una planta de *S. lycopersicum*, que da origen cuando se desarrolla hasta la planta de *S. lycopersicum* tolerante o resistente a la plaga de artrópodos como se define en lo anterior, que es de manera preferente una planta comercial también resistente a ToMV (Virus del Mosaico del Tomate). Tales semillas son de esta manera "semillas de una planta de la invención", es decir semilla que da origen a una planta de la invención. La invención también se refiere con la semilla de una planta de la invención, es decir obtenida de tal plantas después de la autofecundación o cruza, con la condición sin embargo de que la planta obtenida de la semilla sea resistente o tolerante a la plaga de artrópodos debido a las secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren el atributo.

De acuerdo con un tercer aspecto, que es un aspecto no reivindicado, la presente divulgación también se dirige al uso de una planta de tomate como se detalla de acuerdo con el primer aspecto de la invención, es decir tolerante y/o resistente a la placa de artrópodos, especialmente a *T. absoluta*, como un socio de reproducción en un programa de reproducción para obtener plantas de *S. lycopersicum* tolerantes o resistentes a los artrópodos de la plaga. De hecho, tal planta de tomate de acuerdo con el primer aspecto aloja en su genoma secuencias con introgresión de *S. galapagense*, que confieren tolerancia o resistencia. Al cruzar esta planta con plantas susceptibles o menos resistentes, de esta manera es posible transferir estas secuencias, confiriendo el genotipo deseado, a la progenie. Una planta de acuerdo con la invención de esta manera se puede usar como un socio de reproducción para aplicar introgresión a secuencias que confieren el fenotipo deseado en una planta de *S. lycopersicum* o plasma germinal. La divulgación también se dirige al mismo uso con las plantas o semillas de TUT115 como se depositan en NCIMB bajo el número de acceso 42109. Las plantas también son adecuadas como socios de introgresión en un programa de reproducción que fija como objetivo la conferencia del fenotipo deseado a una planta de *S. lycopersicum* o plasma germinal.

En tal programa de reproducción, la selección de la progenie que muestra el fenotipo deseado, o que lleva secuencias ligadas al fenotipo deseado, se puede llevar a cabo ventajosamente sobre la base del alelo de los marcadores SNP. La progenie se selecciona de manera preferente en presencia de uno o más de los siguientes alelos específicos: alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1; alelo C de SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, alelo T de SNP EE_0301 en el cromosoma 5, alelo G de SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, alelo A de SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9; alelo C de SNP EP_0502 en el cromosoma 9, alelo A de SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, alelo T de SNP EE_2332 en el cromosoma 9, alelo C de SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12 y alelo T de SNP EE_0924 en el cromosoma 12.

La selección de la progenie que tiene el fenotipo deseado también se puede hacer en condiciones de infestación de plagas, como se describe *inter alia* en el ejemplo 1 para *T. absoluta*.

Una planta de acuerdo con la invención, o como se depositó bajo el número de acceso NCIMB 42109, es de esta manera particularmente valiosa en una selección asistida por marcador para obtener líneas de tomates comerciales y variedades resistentes y/o tolerantes a la plaga de artrópodos, especialmente al *T. absoluta*.

La invención también se dirige al uso de las plantas en un programa que fija como objetivo identificar, secuenciar y/o clonar los genes que confieren el fenotipo deseado, es decir resistencia y/o tolerancia a la plaga de artrópodos, especialmente a *T. absoluta*.

Cualquier modalidad específica descrita para el 1° y 2° aspectos de la invención también es aplicable a este aspecto de la invención.

De acuerdo con un aspecto no reivindicado, la divulgación también se refiere a métodos para la producción de plantas de *S. lycopersicum* que tiene el fenotipo deseado, específicamente plantas comerciales. De manera preferente tales plantas también son resistentes a ToMV (Virus del Mosaico del Tomate).

Un método o proceso para la producción de una planta que tiene sus características comprende los siguientes pasos:

- a) Cruzar una planta que corresponde a las semillas depositadas (NCIMB 42109) y una planta de *S. lycopersicum* susceptible o menos resistente, en la cual el fenotipo deseado se va a importar o mejorar. La planta susceptible puede poseer o no tener la característica de la resistencia a ToMV.
- b) Seleccionar una planta resistente a la plaga de artrópodos en la progenie obtenida de esta manera, o una planta que lleva secuencias ligadas al fenotipo deseado; en una modalidad, tal planta también es resistente a ToMV;
- c) Auto-polinizar opcionalmente una o varias veces la planta resistente obtenida en el paso b) y seleccionar una planta resistente a la plaga de artrópodos en la progenie obtenida de esta manera; en una modalidad, tal planta también es resistente a ToMV;
- d) Retrocruzar la planta resistente seleccionada en el paso b) o c) con una planta de *S. lycopersicum* susceptible (es decir susceptible a la plaga de artrópodos), de manera preferente, tal como una planta susceptible es resistente a ToMV;
- e) Seleccionar una planta resistente a la plaga de artrópodos y de manera preferente también resistente a ToMV.

Alternativamente, el método o proceso puede comprender los siguientes pasos:

- a1) cruzar una planta que corresponde a las semillas depositadas (NCIMB 42109) y una planta de *S. lycopersicum* susceptible o menos resistente, en la cual el fenotipo deseado se va a importar o mejorar, generando de esta manera la población F1. La planta susceptible puede poseer o no la característica de resistencia a ToMV.
- a2) Incrementar el híbrido F1 para crear la población F2;
- b) Seleccionar individuos resistentes en la progenie obtenido de esta manera; en una modalidad, tal individuo es también resistente a ToMV.
- c) Auto-polinizar opcionalmente una o varias veces la planta resistente obtenida en el paso b) y seleccionar una planta resistente en la progenie obtenida de esta manera; en una modalidad, tal planta también es resistente a ToMV;
- d) Retrocruzar la planta resistente seleccionada en el paso c) o d) con una planta *S. lycopersicum* susceptible (es decir susceptible a la plaga de artrópodos), de manera preferente, tal como una planta susceptible es resistente a ToMV;
- e) Seleccionar una planta resistente a la plaga de artrópodos y de manera preferente también resistente a ToMV.

De acuerdo con otra modalidad, se puede seleccionar en los pasos b), c) y e) cualquier planta tolerante a la plaga de artrópodos o resistente a la plaga de artrópodos.

La planta seleccionada en el paso e) es de manera preferente una planta comercial, especialmente una planta que tiene frutos que pesan al menos 25 g, o al menos 50 g en plena madurez en condiciones de cultivo normales.

De manera preferente, los pasos d) y e) se repiten al menos dos veces y de manera preferente tres veces, no necesariamente con la misma planta *S. lycopersicum* susceptible. La planta de *S. lycopersicum* susceptible es de manera preferente una línea de reproducción.

La resistencia al tributo de nematodo se puede usar en lugar de o además de la resistencia a ToMV en el proceso descrito en lo anterior.

Los pasos de auto-polinización y retrocruzamiento se pueden llevar a cabo en cualquier orden y se pueden intercalar, por ejemplo un retrocruzamiento se puede llevar a cabo antes y después de una o varias autopolinizaciones, y las autopolinizaciones se pueden prever antes y después de uno o más retrocruzamientos.

Por otra parte, tal método se lleva a cabo ventajosamente al usar marcadores de SNPs para una o más de las selecciones llevadas a cabo en los pasos b), c) y/o e) para seleccionar plantas resistentes a la plaga de artrópodos. Los marcadores de SNP son de manera preferente uno o más de los 12 marcadores de SNP de la invención. De acuerdo con una modalidad preferida, la selección se hace al menos parcialmente sobre la base del alelo de uno o más de SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1; SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, SNP EE_0301 en el cromosoma 5, SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9; SNP EP_0502 en el cromosoma 9, SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, SNP EE_2332 en el cromosoma 9, SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12 y SNP EE_0924 en el cromosoma 12. La selección se lleva a cabo de manera preferente al detectar los alelos de al menos 2 o 3 de estos SNPs, de manera preferente al menos 5, 8 o 10, o sobre la base de los 12 marcadores de SNP. De manera preferente, cuando solo un conjunto parcial de los 12 marcadores se usa, el conjunto combina los SNPs en diferentes cromosomas. Alternativamente, los conjuntos parciales de los 12 marcadores combinan los marcadores que se encuentran en la misma región i) a iv) como se define con respecto al primer aspecto de la invención.

La planta seleccionada en cualquiera de los pasos b), c) y/o e) se selecciona de manera preferente en presencia de uno o más de los siguientes alelos específicos: alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1; alelo C de SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, alelo T de SNP EE_0301 en el cromosoma 5, alelo G de SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, alelo A de SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9; alelo C de SNP EP_0502 en el cromosoma 9, alelo A de SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, alelo T de SNP EE_2332 en el cromosoma 9, alelo C de SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12 y alelo T de SNP EE_0924 en el cromosoma 12.

La selección de la progenie que tiene el fenotipo deseado también se puede hacer en condiciones de infestación de plagas, como se describe *inter alia* en el ejemplo 1 para *T. absoluta*.

El método usado para la detección de alelos se puede basar en cualquier técnica que permita la distinción entre dos alelos diferentes de un SNP, en un cromosoma específico.

La divulgación también se dirige, en un aspecto no reivindicado, a un método o proceso para obtener plantas de *S. lycopersicum* que tienen el fenotipo deseado, en donde el método comprende los pasos de:

- a) Hacer una cruce inter-específica entre una planta de *S. galapagense* y una planta de *S. lycopersicum* susceptible,
- b) Seleccionar un híbrido resistente en la progenie obtenido de esta manera o una planta que lleva secuencias ligadas al fenotipo deseado,
- c) Auto-polinizar opcionalmente una o varias veces la planta resistente obtenida en el paso b) y seleccionar un híbrido resistente en la progenie obtenido de esta manera;
- d) Retrocruzar el híbrido resistente seleccionado en el paso b) o c) con una planta de *S. lycopersicum* susceptible (es decir susceptible a la plaga de artrópodos); tal planta susceptible puede ser resistente a ToMV;
- e) Seleccionar una planta resistente a las plaga de artrópodos,
- f) Auto-polinizar la planta resistente obtenida en el paso e), y
- g) Seleccionar una planta resistente al os artrópodos de plaga y es también de manera preferente resistente a ToMV,

en donde los pasos d) a g) se pueden repetir y en donde los marcadores de SNPs se usan en los pasos b), c), e) y/o g) para seleccionar plantas resistentes a la plaga de artrópodos, como se detalla para el método previo.

De acuerdo con otra modalidad, se pueden seleccionar plantas tolerantes a la plaga de artrópodos. La planta selecciona en el paso g) es de manera preferente una planta comercial, especialmente una planta que tiene frutos que pesan al menos 25 g, o al menos 50 g, en plena madurez en condiciones de cultivo normales.

La divulgación también se refiere a un método en donde los pasos a) a c) no se llevan a cabo y en donde el paso d) se lleva a cabo con una planta obtenida de la semilla depositada (número de acceso NCIMB 42109) en lugar del híbrido resistente mencionado en lo anterior en el paso d).

La resistencia al atributo de nematodos se puede usar en lugar de o además de la resistencia en ToMV en los procesos descritos en lo anterior.

Todas las modalidades preferidas situadas en lo anterior para el método previo aplican *mutatis mutandis* a este método alternativo. Especialmente, los pasos d) y e) se pueden repetir, se llevan a cabo de manera preferente dos veces, o tres veces. Lo mismo aplica a los pasos f) y g) que se llevan a cabo de manera preferente dos veces, tres veces o más.

La presente divulgación también se refiere, en un aspecto no reivindicado, a una planta obtenida u obtenible por tal método. Tal planta es de hecho una planta de *S. lycopersicum* que tiene el fenotipo deseado de acuerdo con el primer aspecto de la invención y es de manera preferente también resistente a ToMV.

La divulgación también se dirige, en un aspecto no reivindicado, a un método para obtener plantas de tomate comercial, que tienen el fenotipo deseado, que comprenden los pasos de:

- Retrocruzar una planta, obtenida al hacer germinar las semillas depositadas TUT115 (número de acceso NCIMB 42109), con una planta de *S. lycopersicum*, por ejemplo una planta de *S. lycopersicum* susceptible a la plaga de artrópodos; tal planta de *S. lycopersicum* puede ser resistente a ToMV;
- Seleccionar una planta tolerante o resistente a la plaga de artrópodos y es de manera preferente también resistente a ToMV.

La selección en el segundo paso se lleva a cabo de manera preferente como se detalla en lo anterior para los otros métodos desvelados. La selección se lleva a cabo de manera preferente en presencia de uno o más de los alelos

específicos de los SNPs de la invención, como se encuentra en TUT115.

La planta seleccionada es de manera preferente una planta comercial, especialmente una planta que tiene frutos que pesan al menos 25 g, o al menos 50 g, en plena madurez en condiciones de cultivo normales.

La invención por otra parte se dirige a un método para detectar y/o seleccionar plantas de *S. lycopersicum* que tienen secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren resistencia a la plaga de artrópodos, sobre la base de la detección de alelos de al menos un SNP elegido entre el grupo de SNPs que comprenden SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1; SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, SNP EE_0301 en el cromosoma 5, SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9; SNP EP_0502 en el cromosoma 9, SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, SNP EE_2332 en el cromosoma 9, SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12 y SNP EE_0924 en el cromosoma 12. Las plantas tolerantes o resistentes se seleccionan si al menos uno de los siguientes marcadores se detecta: alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348; alelo C de SNP EP_1592_LC7762, alelo T de SNP EE_0301, alelo G de SNP EE_4363_LC7656, alelo A de SNP CL016475-0340; alelo C de SNP EP_0502, alelo A de SNP EE_4969_LC7529, alelo T de SNP EE_2332, alelo C de SNP SL10204_1269, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 y alelo T de SNP EE_0924, en un muestra de material genético de la planta que se selecciona. De acuerdo con una modalidad preferida, el alelo de interés que se detecta está presente homocigotamente en la planta seleccionada, es decir no otro alelo del SNP está presente.

De acuerdo con una modalidad particularmente preferida, la selección se hace de esta manera en presencia simultánea de los siguientes 12 alelos: alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348; alelo C de SNP EP_1592_LC7762, alelo T de SNP EE_0301, alelo G de SNP EE_4363_LC7656, alelo A de SNP CL016475-0340; alelo C de SNP EP_0502, alelo A de SNP EE_4969_LC7529, alelo T de SNP EE_2332, alelo C de SNP SL10204_1269, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 y alelo T de SNP EE_0924, y la ausencia concomitante de los siguientes alelos: alelo T de SNP solcap_snp_sl_18619, alelo T de SNP solcap_snp_sl_12348; alelo T de SNP EP_1592_LC7762, alelo G de SNP EE_0301, alelo T de SNP EE_4363_LC7656, alelo G de SNP CL016475-0340; alelo A de SNP EP_0502, alelo G de SNP EE_4969_LC7529, alelo C de SNP EE_2332, alelo T de SNP SL10204_1269, alelo T de SNP SGN-U573565_snp665 y alelo C de SNP EE_0924.

Tal combinación de alelos se va a encontrar en las plantas desarrolladas de la semilla depositada. Cualquier combinación específica de alelos descritos en las otras partes de la aplicación también es aplicable al presente aspecto de la invención.

Además de la introgresión de las secuencias que confieren resistencia o tolerancia a la plaga de artrópodos, como se detalla en los métodos desvelados, las secuencias también se pueden introducir en el fondo de *S. lycopersicum* por ingeniería genética a fin de obtener una planta de *S. lycopersicum* comercial resistente o tolerante a la plaga. La identificación y clonación de las secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren el fenotipo deseado, *inter alia* del depósito, son de rutina para la persona experta.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención también se dirige a una planta híbrida de *S. lycopersicum*, obtenible al cruzar una planta tolerante o resistente de forma homocigota de acuerdo con el primer aspecto de la invención, con una planta de *S. lycopersicum*, por ejemplo una planta susceptible a la plaga de artrópodos, o una planta con un nivel diferente de resistencia o tolerancia a la plaga de artrópodos. Una planta de *S. lycopersicum* híbrida particularmente preferida, es una planta que muestra una esterilidad masculina citoplásmica, o cualquier otro atributo o fenotipo de interés agronómico.

Descripción de las figuras

La **FIGURA 1** ilustra la oviposición de la polilla por hoja, para diferentes plasmas germinales en un experimento de lección múltiple. La polilla bajo prueba es *T. absoluta*.

La **FIGURA 2** ilustra la oviposición de la polilla por hoja, para la variedad de cultivo para el *T. absoluta*, la línea recurrente *LYCO1* y el plasma germinal *GALA1*, en un experimento de tres elecciones. La polilla bajo prueba es *T. absoluta*.

La **FIGURA 3** ilustra la alimentación de la polilla por hoja. La polilla bajo prueba es *T. absoluta*.

La **FIGURA 4** ilustra la descamación por daño por alimentación de la hormiga roja.

La **FIGURA 5**: resistencia del tomate contra hormigas rojas. El daño por alimentación se analizó usando una prueba de diferencia Hsu-Dunett LSMeans para significancia. Los puntos sólidos indican si una línea RIL individual es significativamente diferente comparada con la precursora recurrente *LYCO1*. UDL=Límite de Decisión Superior, LDL=Límite de Decisión Inferior. El área gris enfatiza los límites de decisión que indican una diferencia significativa comparada con la *LYCO1* LSMeans.

La **FIGURA 6**: Resistencia del tomate contra tisanópteros. El daño por alimentación se analizó usando una prueba de diferencia Hsu-Dunett LSMeans para significancia. Los puntos sólidos indican si una línea RIL individual es significativamente diferente comparada con la *LYCO1* precursora recurrente. UDL=Límite de Decisión Superior, LDL=Límite de Decisión Inferior. El área gris enfatiza los límites de decisión que indican una

diferencia significativa comparada con la LYCO1 LSMean.

Descripción detallada de la invención

5 Ejemplo 1: Prueba de una posible fuente de resistencia a *T. absoluta*.

Como un punto de partida de la realización de la invención, los presentes inventores han conducido varios experimentos para clasificar la resistencia a la polilla del tomate entre varias especies de tomate. A partir de hoy, el *S. galapagense* no se ha identificado como una fuente posible de resistencia al *T. absoluta*.

10 **Materiales y métodos:**

Crianza del plasma germinal de tomate

15 El plasma germinal de tomate se sembró y se crio en charolas de vivero (187 agujeros de 3.81 cm (1.5")/charola). Las plántulas que tienen 3-4 hojas verdaderas se trasplantaron en macetas de 1L que contienen una mezcla de suelo de suelo de turba y volcánico (2:1). Las plantas se transcribieron a un invernadero sin insectos para desarrollo adicional. Las plantas se regaron regularmente y se agregó fertilizante (6:6:6 NPK + micro-elementos). Las temperaturas variaron entre el día y la noche y durante las estaciones: particularmente 26°C en el día y 17°C en la noche en invierno, y 27°C en el día y 23°C en la noche en verano. No se aplicaron insecticidas, y después de tres semanas las plantas se trataron con el fungicida PROPAMOCARB-HCL. Las plantas que tienen al menos 6 hojas verdaderas se usaron para experimento, estas plantas fueron de aproximadamente de 6 semanas de edad y de 30-45 cm de altura.

25 Los plasmas germinales sometidos a prueba se mencionan en la tabla 1:

Tabla 1

Nombre	Especie
LYCO3	<i>S. lycopersicum</i>
LYCO4	<i>S. lycopersicum</i>
LYCO5	<i>S. lycopersicum</i>
LYCO1	<i>S. lycopersicum</i>
LYCO6	<i>S. lycopersicum</i>
LYCO2 (Rehovot-13)	<i>S. lycopersicum</i>
HABRO1	<i>S. habrochaites</i>
PENN1	<i>S. pennellii</i>
PERU1	<i>S. peruvianum</i>
HABRO2	<i>S. habrochaites</i>
PIMP1	<i>S. pimpinellifolium</i>
NEORI	<i>S. neorickii</i>
PENN2	<i>S. pennellii</i>
PERU2	<i>S. peruvianum</i>
CHMIE1	<i>S. chmielewskii</i>
GALA1	<i>S. cheesmaniae</i> o <i>S. galapagense</i>
HABRO3	<i>S. habrochaites</i>
HABRO4	<i>S. habrochaites glabratum</i>
ARCA1	<i>S. arcanum</i>
PERU3	<i>S. peruvianum</i>
CHMIE2	<i>S. chmielewskii</i>

Crianza de polilla del tomate sudamericano

30 La población de polillas del tomate sudamericano se crio en plantas de tomate de LYCO2. Las plantas que tienen al menos 6 hojas verdaderas se colocaron en una jaula de insectos (45*45*90cm; gaza de malla 150), a la cual se agregaron polillas del tomate adultas. Las polillas del tomate adultas se recolectaron de plantas de tomate de

invernadero comerciales infestadas. Los insectos se criaron a aproximadamente 25°C y bajo condiciones de luz 16hr:8hr (L:D) (TLD 840 36W Philips). Bajo estas condiciones de crecimiento el ciclo de vida de la plaga duró aproximadamente 28 días. Para transferir las polillas del tomate adultas se usó un recolector de vacío de insectos.

5 *Experimento de la oviposición de la polilla del tomate: Experimento de múltiples selecciones*

Una selección de 15 genotipos diferentes (ver también la tabla 1) se sometieron a prueba para diferencias en la atracción de la oviposición para polillas del tomate hembras. Una planta que se origina de un genotipo se colocó aleatoriamente en una jaula de insectos (45*45*90cm; gaza de malla 150). Las plantas experimentales se expusieron a 100 polillas adultas. Dos días después de la infestación (2dpi) se registró el número total de huevos por hojas presentes por genotipo (24-26°C, 50-70% de RH; 8hr en la oscuridad y 16hr en la luz (Philips reflex TLD 840 36W)).

15 *Experimento de la oviposición de la polilla del tomate: Experimento de tres elecciones*

Las diferencias en el comportamiento de la oviposición de la polilla entre tres genotipos, es decir LYCO2, LYCO1, y GALA1 (ver tabla 1), se estudiaron. Las plantas se colocaron en una jaula de insectos (45*45*90cm; gaza de malla 150), y se expusieron a 50 polillas adultas. Tres días después de la infestación (3dpi) se contó el número de huevos puestos en la primera hoja completamente desarrollada por genotipo (24-26°C, 50-70% de RH; 8hr de oscuridad y 16hr de luz (Philips reflex TLD 840 36W)).

Experimento del comportamiento de la alimentación de la polilla

El comportamiento de la alimentación de las larvas de polilla se estudió al exponer una selección de genotipos de tomate a polillas adultas en una configuración de elección. Las plantas se colocaron en una jaula de insectos (45*45*90cm; gaza de malla 150). Una jaula contuvo 15 plantas individuales aleatoriamente colocadas de diferentes plasmas germinales, el experimento consistió de dos replicados. Por replicado los genotipos bajo prueba (ver también la tabla 1) se expusieron a 100 polillas adultas. Siete días después de la infestación se contó el número exacto de minas por hoja, puesto que el número de minas son indicativos para la atracción de alimentación por las larvas de la polilla. Una mina es el espacio creado en el tejido de la hoja entre las capas epidérmicas por la alimentación de herbívoros (24-26°C, 50-70% de RH; 8hr de oscuridad y 16hr de luz (Philips reflex TLD 840 36W)).

Identificación de las líneas endogámicas recombinantes resistentes de GALA1 y LYCO1 Invernadero

Los experimentos se condujeron en un invernadero de plástico de aproximadamente 300m². Dentro del invernadero se usaron plantas de tomate LYCO2 para el desarrollo de una población de polillas del tomate, para este fin sobre una base regular se trasplantaron nuevas plantas de LYCO2 obtenidas del vivero en el invernadero en macetas de 15L rellenas con suelo volcánico limpio. Las plantas de tomate LYCO2 se desarrollaron en ambas filas exteriores largas del invernadero.

Las filas internas se dividieron en 14 secciones diferentes (parcelas) con 16 macetas cada una (15L), entre las parcela también se colocaron algunas plantas de tomate LYCO2.

Preparación de la planta usada para experimentos de identificación:

Todas las plantas que se usaron en el experimento de elección se sembraron y se criaron en el invernadero en charolas (187 agujeros de 3.81 cm (1.5")/charola), sin aplicación de insecticidas. Las plántulas que tienen 3-4 hojas verdaderas se trasplantaron en macetas de 1L que contienen mezcla de suelo de suelo de turba y volcánico (2:1). Las plantas se transfirieron a un invernadero sin insectos para desarrollo adicional hasta que alcanzaron al menos 6 hojas verdaderas hasta 10 hojas verdaderas. Esta variación en número de las hojas verdaderas fue provocada por las diferencias en el crecimiento de la planta entre el plasma germinal del tomate. Las plantas fueron soportadas por palos de bambú usando sujetadores de plástico.

Configuración de los experimentos de invernadero:

Cuando las polillas del tomate se criaron en las plantas LYCO2 fueron abundantemente presentes en el invernadero, el plasma germinal de tomate listo para prueba se transfirió en el invernadero. Las plantas seleccionadas para prueba fueron de aproximadamente un metro de altura (+/- BBCH-18: 8 hojas verdaderas: 7 semanas después de la siembra) (Zadoks y colaboradores, 1974). Las plantas se colocaron directamente con sus macetas de plástico de 1L en las macetas de 15L, y se colocó un cuentagotas de irrigación por goteo en la maceta de 1L. Las plantas de tomate se colocaron en el invernadero en un diseño de parcela con 7 repeticiones experimentales. Dentro de cada parcela, las plantas se colocaron aleatoriamente. Las temperaturas variaron entre 17°C en la noche y 40°C durante el día. El experimento de clasificación de población RIL total se dividió en sub-experimentos por fecha de plantación.

De cada planta en BBCH-18, se etiquetaron 3 hojas completamente desarrolladas consecutivas colocadas en la tercera parte superior de la planta. Tres días después de la colocación en el invernadero, los huevos se contaron en

todas las hojas etiquetadas. Aproximadamente 8 y 13 días después de la exposición a la población de polillas del tomate en el invernadero, se registró el Tipo de Lesión del Foliolo (LLT), el Porcentaje de Foliolo Atacado (PLA) por foliolos etiquetados previos, y fue evidente el Daño Total de la Planta (OPD) (ver: Maluf y colaboradores, 1997, tabla 1). Los análisis de los medios usando un método de Dunnett. Para esto, el precursor recurrente susceptible de la población RIL, *LYCO1*, se usó como un control.

Tabla 2. Sistema de indexación usado para registrar los parámetros del Tipo de Lesión del Foliolo (LLT), Daño Total de la Planta (OPD) y Porcentaje de los Foliolos Atacados (PLA) en las plantas infestadas por la polilla.

Registros LLT (= Tipo de Lesión del Foliolo):

- 0 = sin lesión.
- 1 = lesiones pequeñas, raras.
- 2 = lesiones de tamaño pequeño a medio, usualmente hacia los bordes del foliolo.
- 3 = lesiones de tamaño medio a grande, coalescentes; bordes foliares deformados.
- 4 = lesiones de tamaño grande, coalescentes; foliolos deformados.
- 5 = superficie del foliolo entera lesionada.

Registros OPD (= Daño Total de la Planta):

- 0 = sin daño a la hoja.
- 1 = hasta 5% del área de la hoja total dañada; lesiones no coalescentes pequeñas.
- 2 = > 5% hasta 20% del área de la hoja total dañada; lesiones no coalescentes, pequeñas.
- 3 = > 20% a 50% de la hoja total dañada; lesiones de tamaño medio a grande.
- 4 = > 50% hasta 80% del área de la hoja total dañada; lesiones numerosas, grandes, coalescentes.
- 5 = > 80% a 100% del área de la hoja total dañada.

Registros PLA (= Porcentaje de Foliolos Atacados):

- 0 = sin foliolos atacados.
- 1 = 0% a 5% de foliolos atacados.
- 2 = 5% a 20% de foliolos atacados.
- 3 = 20% a 50% de foliolos atacados.
- 4 = 50% a 80% de foliolos atacados.
- 5 = 80% a 100% de foliolos atacados.

Resultados

1/Comportamiento de la oviposición de la polilla

1.1/Experimento de múltiples selecciones

Las preferencias de la oviposición de la polilla se estudiaron bajo condiciones de laboratorio climatizadas. Para cada genotipo probado se colocó una planta en una jaula experimental. Las plantas fueron de aproximadamente de la misma altura, mientras que el número de hojas varió entre 6 y 11. Las plantas se expusieron a 100 polillas adultas durante 2 días, después de lo cual se registró el número de huevos por hoja por planta. Por genotipo probado se calculó el número promedio de huevos por hoja.

Los resultados se presentan en la figura 1. Como se puede observar a partir de esta figura, *GALA1* presenta un número muy bajo de huevos por hoja en este tipo de experimento.

1.2/ Experimento de tres selecciones:

Se sometieron a prueba diferentes genotipos de tomate en un experimento de elección para las preferencias de oviposición por la polilla. Las plantas se colocaron en una jaula experimental (una planta por genotipo) bajo condiciones de laboratorio controladas. Las placas fueron aproximadamente de la misma altura, mientras que el número de hojas varió entre 7 y 11. Las plantas se expusieron a 50 polillas adultas durante 3 días. Tres días después de la infestación se contó el número exacto de huevos en la primera hoja completamente desarrollada por planta. Los resultados se presentan en la figura 2, que ilustra que *GALA1* es menos susceptible a la alimentación de la polilla que la variedad *LYCO2* en la cual la polilla se crio, y *LYCO1*.

2/Comportamiento de la alimentación de la polilla

Se estudió el comportamiento de la alimentación de larvas de polilla al exponer los genotipos de tomate a 100 polillas adultas en un experimento de elección. Los genotipos de tomate probados se colocaron en una jaula bajo condiciones de laboratorio climatizadas (dos replicados con una planta por genotipo).

Las plantas fueron aproximadamente de la misma altura, mientras que el número de hojas varió entre 6 y 11. A 7 dpi se contaron los números exactos de minas por hoja.

Los resultados se presentan en la figura 3. Esta figura ilustra que *GALA1* es menos susceptible para alimentación de la polilla que la mayoría de los otros plasmagmas germinales sometidos a prueba.

Conclusión: En las pruebas conducidas, los presentes inventores mostraron un nivel de resistencia para varios genotipos contra la polilla. Basado en estos resultados, los inventores seleccionaron la *GALA1* como el candidato más adecuado para experimentos adicionales.

3/Identificación de las variedades RIL resistentes desarrolladas de *GALA1* y *LYCO1*

Objetivo: En este experimento, los inventores estudiaron los parámetros de ciclo de vida directos e indirectos como oviposición y alimentación de la polilla en la *GALA1* donadora (*L. galapagense*), *LYCO1* precursora recurrente (*L. esculentum*), la variedad de crianza para la polilla, es decir *LYCO2*, y las líneas RIL individuales.

Resultados:

La población de RIL creada con la *GALA1* y *LYCO1* precursora recurrente, se clasificó para resistencia contra la polilla del tomate.

Más específicamente, la población RIL usada fue una población interespecífica derivada de una cruce entre *S. lycopersicum* (cultivar endogámico *LYCO1*) y *GALA1* de *S. galapagense*. La *LYCO1* se verificó como susceptible a la polilla sudamericana. Esta población consistió de líneas endogámicas recombinantes F8 (RILs) desarrolladas por Seed Descent.

Las líneas RIL por su experimento con mayores niveles significativos de resistencia que su precursor recurrente, *LYCO1*, se listan a continuación en la tabla 3. Los medios para distinguir los parámetros de RIL se compararon estadísticamente con la media de la precursora recurrente por fecha de plantación. Una clasificación de solamente las líneas RIL resistentes significativamente diferentes por parámetro se llevó a cabo por la normalización usando la precursora recurrente como el denominador (si la media normalizada es <1 , la planta es resistente; si la media normalizada es ≥ 1 , la planta es susceptible). Dentro de esta invención, los inventores caracterizaron como líneas RIL de resistencia más robusta TUT101, TUT103, TUT110 y TUT117. Las líneas RIL TUT115, TUT110 y TUT111 mostraron resistencia inmediata más potente, en PLA1, contra la oviposición.

Tabla 3. RIL's identificadas con un nivel de resistencia más alto que la precursora recurrente (*LYCO1*). Se muestran solo las RIL's con un registro medio más bajo significativo para un parámetro dado en dos puntos de tiempo por su experimento (n=número de plantas).

PLA1	n	media (RIL)/ media (LYCO1)	PLA2	n	media (RIL)/ media (LYCO1)	LLT2	n	media (RIL)/ media (LYCO1)	OPD2	n	media (RIL)/ media (LYCO1)
TUT115	7	0,09	TUT101	8	0,75	TUT101	8	0,66	TUT101	8	0,44
TUT110	7	0,42	TUT110	7	0,76	TUT120	7	0,75	TUT103	7	0,54
TUT111	8	0,48	TUT117	7	0,85	TUT111	8	0,75	TUT104	7	0,62
TUT114	7	0,61	TUT119	7	0,92	TUT112	7	0,75	TUT110	6	0,75
TUT108	8	0,61				TUT113	8	0,75	TUT111	8	0,75
TUT101	8	0,61				TUT115	7	0,75	TUT114	7	0,79
TUT118	7	0,81				TUT116	7	0,75			
						TUT103	7	0,78			
						TUT109	8	0,78			
						TUT110	6	0,79			

La resistencia observada se podría ver como un atributo o como una combinación de atributos que influyen en el desempeño de la plaga y o el daño provocado por la plaga. Varias características de plantas subyacentes podrían explicar la preferencia no de alimentación observadas.

Por lo tanto, los inventores concluyeron que han identificado la resistencia (que comprende *inter alia* preferencia no de alimentación) indicada por la PLA y a un menor grado también por LLT y OPD.

TUT115 se ha depositado por Hazera Genetics Ltd, Berurim, M.P. Shikmim 79837, Israel, con el NCIMB (NCIMB Ltd, Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen AB21 9YA, Reino Unido), el 11 de Febrero de 2013, bajo el número de acceso NCIMB 42109.

Información fenotípica basada en PLA:

La información fenotípica (basada en PLA) muestra que tanto la línea TUT115 como TUT101 muestran una reducción significativa en las hojas afectadas por *T. absoluta*. La línea TUT115 está en el nivel del donador y la línea TUT101 solo en 1/5th de la precursora recurrente (=susceptible).

La información genotípica (ver ejemplo 2) no muestra la diferencia entre la línea TUT115 y TUT101.

PLA ajustada	
LYCO1 precursora recurrente	53%
GALA1 donadora	2.50%
TUT115	0%
TUT101	11%

4/Experimentos de validación de guías RIL prometedoras

En este experimento, los inventores validaron una cámara de crecimiento, los niveles de resistencia detectados tempranos de las guías RIL prometedoras de la pantalla de invernadero.

Las líneas RIL de tomates resistentes prometedoras, el donador y el precursor recurrente se criaron como se describe en el ejemplo 1 (ver párrafo de *crianza de plasma germinal de tomate* de Materiales y Métodos). En una jaula experimental (90cm*90cm*130cm (H*W*L); gaza de malla 150) 11 plantas (6-10 hojas verdaderas, 5-8 semanas de edad, altura, 30-60 cm) se sometieron a prueba para resistencia.

Una jaula experimental contuvo 4 líneas de RIL para prueba (es decir TUT101, TUT110, TUT115 y TUT103) en replica, 2 plantas precursoras recurrentes y una planta donadora. De cada planta se etiquetaron 3 hojas completamente desarrolladas consecutivas colocadas en la tercera parte superior de la planta. Las plantas se infestaron al introducir 100 polillas del tomate adultas por jaula experimental. Un experimento contuvo 8 jaulas experimental (24-26°C; 50-70% de RH; 8hr de oscuridad: 16hr de luz (Philips reflex TLD 840 36W).

Tres días después de la introducción de las polillas del tomate, los huevos se contaron en todas las hojas etiquetadas. Aproximadamente 8 y 13 días después de la introducción de las polillas adultas, el Tipo de Lesión del Foliolo (LLT), el Porcentaje del Foliolo Atacado (PLA), y Daño Total de la Hoja (OLD) se registraron por folíolos antes etiquetados, y se notó el Daño Total de la Planta (OPD). Los parámetros de prueba se analizaron para diferencias significativas con un análisis de una vía del medio usando un método de Dunnett. Para esto, la precursora recurrente susceptible de la población RIL, LYCO1, se usó como un control. (Ver tabla 2 para el sistema de indexación).

Resultados

En este experimento de elección las RILs seleccionadas se compararon contra la LYCO1 precursora recurrente. Los medios de las líneas individuales se ajustaron al introducir un efecto de jaula en el modelo línea. Las líneas individuales se compararon usando la prueba de Tukey Kramer.

El análisis confirmó para OPD2, PLA 1 y 2 de las observaciones obtenidas tempranas en el experimento de selección de RIL (sección 3/). La LYCO1 precursora recurrente es significativamente más susceptible comparada con la GALA1 donadora del tipo silvestre, así como las líneas RIL individuales TUT101 y TUT115. Con respecto al parámetro OPD1, la línea RIL TUT110 no es diferente comparada con LYCO1, y para ambas mediciones PLA (es decir puntos de tiempo uno y dos) la TUT103 no difiere significativamente de LYCO1.

Para los parámetros medidos OLD1, LLT2 y los números de conteo de huevos actuales, los datos obtenidos para las líneas RIL indican ninguna diferencia significativa comparada con la precursora recurrente. La GALA1 donadora, no difirió significativamente de las líneas RIL validadas y LYCO1 para los conteos de huevos actuales, pero mostró más resistencia significativa para las mediciones OLD y LLT. Esta muestra claramente la dificultad que se puede encontrar para identificar el parámetro apropiado para medir la resistencia.

Tabla 4:

Parámetros probados que indican diferencias significativas con LYCO1 (Análisis de una Vía del medio usando un método de Dunnett; P <0.05)					
Línea	OPD 2	PLA 1	PLA 2	OLD	LLT
TUT101	+	+	+	-	-
TUT110	-	+	+	-	-
TUT115	+	+	+	-	-
TUT103	+	-	-	-	-
GALA1	+	+	+	+	+

Ejemplo 2: Desarrollo de los marcadores moleculares y la identificación de la genética subyacente**Materiales y métodos****5 Materiales de planta y extracción de ADN:**

La población de descubrimiento para el experimento fue una población interespecífica derivada de una cruce entre *S. lycopersicum* (LYCO1 de cultivar endogámico) y GALA1 de *S. galapagense*. La LYCO1 se verificó como susceptible a la polilla sudamericana, y GALA1 se identificó como resistente a la polilla sudamericana (ejemplo 1).

10 Esta población consistió de Líneas Endogámicas Recombinantes F8 (RILs) desarrolladas por Single Seed Descent.

El ADN genómico de las hojas de tomate se extrajo usando el kit de extracción de ADN de planta Qiagen DNeasy.

Genotipificación del SNP

15 Un conjunto de combinación de 737-SNPs se seleccionó basada en su variación alélica y se espació uniformemente a lo largo del genoma. La genotipificación de SNP de alto rendimiento se llevó a cabo con los ensayos GoldenGate y el lector BeadXpress de Illumina. Los genotipos (de las RILs y de las dos líneas parenterales) se clasificaron con 384 marcadores en una sola placa. Los datos de genotipificación de SNP se registraron usando el software de genotipificación GenomeStudio Illumina con un umbral sin requerimiento de 0.25.

Detalles de la tecnología Illumina GoldenGate

25 Un conjunto de SNP se diseñó para el ensayo Illumina GoldenGate, que usó el sitio y los oligo específicos de alelo con el etiquetado cy3/cy5 para detectar los alelos SNP en cada sitio. Estos conjuntos de ensayo de acumulación Oligo personalizados (OPA) después se ejecutaron en el lector Illumina BeadXpress como ensayos 384-plex VeraCode. El Veracode usa las microcuentas cilíndricas con un código de barras interno para diferenciar los tipos de cuentas que corresponden a diferentes sitios SNP (384 tipos de cuentas se usan para un conjunto de SNP 384-plex), y cada microcuenta se recubrió con oligos que contienen una dirección única que se hibrida con los productos etiquetados. Durante el escaneo en el Lector BeadXpress, las cuentas se alinearon en una placa de ranura, y los códigos de las cuentas y las intensidades de la señal cy3/cy5 se midieron a través de los conjuntos replicados de cuentas para asignar los alelos SNP. Este procedimiento permitió un requerimiento de SNP de alta calidad, rápido de 96 muestras por 384 SNPs sin requerir ensayos fijos. El software GenomeStudio de Illumina se usó para acumular los alelos usados en la relación de las intensidades de señal cy3/cy5 para requerir las tres clases de genotipos.

Los 310 SNPs se retuvieron como marcadores técnicamente válidos y polimórficos.

Selección de los SNPs polimórficos

40 Los SNPs con velocidad de requerimiento por 70% o sin polimorfismo entre los precursores donadores y recurrentes se removieron del análisis, dando por resultado 310 SNPs para análisis adicional.

Identificación de los marcadores ligados significativamente con cada atributo fenotípico**45 Datos genotípicos**

Los datos fenotípicos se recolectaron como se describe en el ejemplo 1. En resumen, el fenotipo de resistencia se identificó por varios métodos de medición: 1) porcentaje de foliolos atacados (PLA), 2) Tipo de Lesión del Foliolo (LLT) y 3) daño total de la planta (OPD) {Maluf, 1997}. Cada uno se midió en dos puntos de tiempo. La primera medición PLA fue la única que se distribuye normalmente, y por lo tanto se usó para la identificación del marcador. La información de los otros dos métodos de medición se usó para reforzar la confianza en los marcadores asociados.

55 Heredabilidad

La heredabilidad de sentido amplio se calculó al dividir la suma de cuadrados de la diferencia del medio para todas las RILs por la suma total de cuadrados.

60 Normalización de los datos fenotípicos

Puesto que las plantas se desarrollaron y se midieron en diferentes fechas, se requirió la normalización. Los datos genotípicos se normalizó usando un modelo lineal mezclado {Zar, 2010}, incluyendo fecha de plantación y medición como efectos fijos. Los medios ajustados del modelo se usaron como entrada para el estudio de asociación descrito a continuación.

65 a continuación.

Asociación

La información de la genotipificación descrita en la sección de genotipificaciones SNP y el medio ajustado de las mediciones fenotípicas se usaron como entrada para el mapeo de asociación a través del ANOVA de una vía, usando R {Broman 2009}. Cada marcador se consideró independientemente a fin de detectar marcadores significativos. Los marcadores significativos después se analizaron en el mismo modelo a fin de recuperar su R^2 combinado.

Identificación del análisis LD y bloques de haplotipo

A fin de definir los límites de los segmentos genómicos del donador resistente que se introdujeron en la población RIL (es decir segmentos que se introdujeron al fondo recurrente como un solo segmento continuo con casi nada de recombinación en la población) los inventores investigaron los patrones LD (Desequilibrio de la Ligación) en la población RIL. La estimación de LD en pares para todas las combinaciones marcadoras en cada cromosoma se condujo usando el software Haploview {Barrett, 2005}. EL LD en pares se midió como la estadística D' {Lewontin, 1964}. Los bloques de haplotipo se definieron usando la opción “de médula sólida” que se definió como una “médula” de LD potente que corre de un marcador a sus marcadores adyacentes en la gráfica LD, significa que el primero y los últimos marcadores en un bloque estuvieron en la LD potente con todos los marcadores intermediarios aunque los marcadores intermediarios no fueron necesarios en la LD entre sí.

Resultados

Algunas RILs se genotipificaron y se genotipificaron usando 310 SNPs polimórficos. Los SNPs se mapearon físicamente a la versión del genoma de tomate 2.1 {Bomblarely, 2011} y después se ajustaron a la versión del genoma de tomate 2.40.

La heredabilidad de sentido amplio de la resistencia a la polilla del tomate sudamericana como se define por la primera medición PLA es 0.6. Esto significa 60% del atributo como es observado por este experimento se puede explicar por los factores genéticos, ya sea aditivos o dominantes.

El análisis de asociación identificó un conjunto de marcadores ligados significativamente a la resistencia a la polilla del tomate sudamericana como se define por la primera medición PLA. La lista de los marcadores asociados y su significancia se resumen en la tabla 5. Esta tabla comprende todos los marcadores significativos que resultan del análisis de los datos genotípicos, asociados con los marcadores SNP por un modelo ANOVA. El R^2 combinado de los marcadores listados totaliza 0.55, significa que todos los marcadores explican juntos 55% de la varianza fenotípica observada. El estado alélico de los marcadores significativos es idéntico en la precursora resistente y la RIL más resistente, particularmente TUT115, como se describe en el ejemplo 1.

Tabla 5:

Cromosoma	posición (versión genoma 2.40)	SNP	Valor P^a	significativo en las mediciones adicionales (valor p)	bloque de Haplotipo ^b
1	68 232 900	solcap_snp_sl_18619	0.02		
1	72 528 600	solcap_snp_sl_12348	0.01	LLT (0.01)	
1	83 766 400	EP_1592_LC7762	0.001		
5	3 636 270	EE_0301	0.02	LLT (0.01)	
6	166 755	EE_4363_LC7656	0.03		
9	22 094 800	CL016475-0340	0.04	LLT2 (0.01), PLA2 (0.01)	1
9	41 847 000	EP_0502	0.04	LLT2 (0.01), PLA2 (0.01)	1
9	49 173 600	EE_4969_LC7529	0.04	LLT2 (0.01), PLA2 (0.01)	1
9	54 692 600	EE_2332	0.04	LLT2 (0.01), PLA2 (0.01)	1
12	124 598	SL10204_1269	0.05	LLT2 (0.05), PLA2 (0.006)	
12	155 493	SGN-U573565_snp665	0.05	LLT2 (0.05), PLA2 (0.006)	
12	1 166 000	EE_0924	0.01	OPD (0.03), LLT2 (0.015), OPD2 (0.03), PLA2 (0.006)	

^a **Valor P** La probabilidad de obtener el resultado por probabilidad. Valor P por abajo de 0.05 se considera significativo. ^b **Bloque de Haplotipo** – Marcadores adyacentes con una velocidad de recombinación baja entre ellos que pertenecen al mismo bloque de haplotipo. Los marcadores del mismo cromosoma y el bloque de haplotipo son marcados por un fondo gris.

Además, se investigó la ocurrencia de varios marcadores en un haplotipo. Se descubrieron varios marcadores adyacentes entre sí en el mismo cromosoma, sugiriendo una velocidad de recombinación baja entre ellos. Por lo tanto se heredaron como un solo bloque de haplotipo. En la tabla 5, el bloque de haplotipo relevante (si está disponible) se lista para cada SNP.

En la tabla 6 se proporciona el alelo de los 12 marcadores, para diferentes líneas resistentes, como es identificado en el ejemplo 1.

Tabla 6:

Cromosoma	Marcador	TUT101	TUT110	TUT115	TUT103	T3	T6
1	solcap_snp_sl_18619	G/G	G/G	G/G	T/T	T/T	G/G
1	solcap_snp_sl_12348	C/C	T/T	C/C	C/C	T/T	C/C
1	EP_1592_LC7762	*	*	C/C	*	T/T	C/C
5	EE_0301	T/T	G/G	T/T	G/G	G/G	T/T
6	EE_4363_LC7656	G/G	G/G	G/G	T/T	T/T	G/G
9	CL016475-0340	A/A	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A
9	EP_0502	C/C	A/A	C/C	A/A	A/A	C/C
9	EE_4969_LC7529	A/A	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A
9	EE_2332	T/T	C/C	T/T	C/C	C/C	T/T
12	SL10204_1269	C/C	C/C	C/C	T/T	T/T	C/C
12	SGN-U573565_snp665	A/A	A/A	A/A	T/T	T/T	A/A
12	EE_0924	T/T	T/T	T/T	C/C	C/C	T/T

* ni T, tampoco C se detectaron por el ensayo.

El genotipo de todos los 310 marcadores de SNP usados en este estudio se proporciona para TUT115 en la tabla 7.

En la última columna de la tabla 6, “1” significa que el alelo del marcador SNP corresponde al precursor donador resistente, en donde “2” significa que el alelo del marcador SNP corresponde al precursor susceptible recurrente. Los SNPs con un asterisco (*) y en cursivas son los 12 marcadores de SNP mencionados en las tablas 5 y 6.

El SNP en negritas con el símbolo “Δ” indica el «borde», en términos de SNPs, del fragmento de introgresión, comienza (“Δs”) o termina (“Δe”).

La posición de cromosoma es con referencia a la versión del genoma de tomate 2.40.

Tabla 7:

SNP	TUT115	LYCO1	GALA1	CROMOSOMA	POSICIÓN	Donador/ recurrente
EE_4663_LC7672	T/T	T/T	C/C	1	1558580	2
EE_2169_LC7254	A/A	A/A	G/G	1	2204620	2
IL3_1821	T/T	T/T	C/C	1	2349120	2
solcap_snp_sl_59890 Δs	A/A	G/G	A/A	1	4597950	1
solcap_snp_sl_19066	C/C	T/T	C/C	1	38118500	1
solcap_snp_sl_14042	T/T	C/C	T/T	1	38274900	1
solcap_snp_sl_18619 *	G/G	T/T	G/G	1	68232900	1
solcap_snp_sl_12348 *	C/C	T/T	C/C	1	72528600	1
EP_0180_LC7488	A/A	C/C	A/A	1	74360500	1
EE_2741_LC7681	C/C	A/A	C/C	1	75365100	1
EP_0350_LC6805	A/A	G/G	A/A	1	76649200	1
solcap_snp_sl_15339 Δe	C/C	T/T	C/C	1	77112400	1
EE_4184_LC7793	A/A	A/A	A/G	1	77540500	2

ES 3 015 723 T3

SL10357_122_LC6821	A/A	G/G	A/A	1	77950400	1
EE_2138_LC7257	C/C	G/G	C/C	1	78104200	1
IL3_1952_LC7796	G/G	A/A	G/G	1	78158000	1
SL10693_51_LC7809	C/C	T/T	C/C	1	78236200	1

(continuación)

SNP	TUT115	LYCO1	GALA1	CROMOSOMA	POSICIÓN	Donador/ recurrente
EE_3245_LC6799	T/T	A/A	T/T	1	78602500	1
SL10489_373_LC7781	G/G	A/A	G/G	1	79286800	1
SL10018_198	A/A	G/G	A/A	1	80408100	1
SL10259_474_LC7727	T/T	T/T	C/C	1	81000900	2
solcap_snp_sl_40154_Δs	NA	T/T	NA	1	83517400	1
EP_1592_LC7762_Δe *	C/C	T/T	C/C	1	83766400	1
EP_1027_LC7889	NA	NA	T/T	1	84256600	2
EE_4621_LC7272	G/G	G/G	A/A	1	86580700	2
solcap_snp_sl_14323	T/T	T/T	C/C	1	86675700	2
EE_2225_LC7481	C/C	C/C	T/T	1	89810700	2
solcap_snp_sl_15058	A/A	A/A	G/G	1		2
SL20284_556_LC7915	A/A	A/A	G/G	2	7194740	2
solcap_snp_sl_12647	T/T	T/T	C/C	2	21285100	2
EE_1649_LC6737	G/G	G/G	A/A	2	29006800	2
solcap_snp_sl_26072	C/C	C/C	T/T	2	29095800	2
solcap_snp_sl_12372	T/T	T/T	G/G	2	29750900	2
SL10173_770_LC6727	C/C	C/C	T/T	2	29820500	2
solcap_snp_sl_15698	A/A	A/A	G/G	2	31368100	2
EP_1969_LC7960	A/A	A/A	C/C	2	33261500	2
solcap_snp_sl_10557	C/C	C/C	A/A	2	34683500	2
SL10153_153_LC7506	A/A	A/A	C/C	2	36959600	2
SL10360_663	G/G	G/G	C/C	2	37860200	2
SL10735_869_LC7741	A/A	A/A	NA	2	40095800	2
IL2_5828_LC5919	A/A	A/A	G/G	2	43801800	2
solcap_snp_sl_12841	T/T	T/T	C/C	2	43801800	2
SL10040_1076_LC7739	T/T	T/T	G/G	2	47239000	2
CL017436-0294	C/C	T/T	C/C	2	48687200	1
EE_3579_LC7227	C/C	C/C	T/T	2		2
solcap_snp_sl_19040	NA	NA	C/C	2		2
EE_4397_LC7630	T/T	T/T	C/C	3	77115	2
solcap_snp_sl_9690	G/G	G/G	A/A	3	2073090	2
solcap_snp_sl_14355	C/C	C/C	T/T	3	7085130	2
IL2_3177_LC6317	T/T	T/T	A/A	3	7669140	2
solcap_snp_sl_12718	T/T	T/T	C/C	3	8904650	2
solcap_snp_sl_12722	G/G	G/G	A/A	3	8943250	2
solcap_snp_sl_4937	T/T	A/A	T/T	3	12866900	1
solcap_snp_sl_4932	A/A	G/G	A/A	3	15380400	1
EP_0398_LC7890	G/G	A/A	G/G	3	38800900	1
EE_2302	G/G	T/T	G/G	3	43641500	1
solcap_snp_sl_1779	G/G	T/T	G/G	3	43641500	1
EE_2301_LC7799	C/C	T/T	C/C	3	43641700	1
EE_3215_LC7337	A/A	G/G	A/A	3	45613700	1
EE_2132_LC7726	G/G	A/A	G/G	3	46645300	1
EE_4940_LC7305	G/G	T/T	G/G	3	57629400	1
SL10019_376_LC7274	G/G	A/A	G/G	3	58095800	1
IL2_3047_LC7278	G/G	A/A	G/G	3	58127400	1
IL2_3855_LC6626	C/C	A/A	C/C	3	58199700	1
EE_3777_LC7270	G/G	A/A	G/G	3	58210300	1
EE_0718_LC7273	G/G	A/A	G/G	3	58226900	1
SL10385_861_LC7255	C/C	T/T	C/C	3	58365800	1
SL20269_959	C/C	T/T	C/C	3	58405600	1
EE_3736_LC7608	T/T	C/C	T/T	3	58640000	1
EE_2254	T/T	C/C	T/T	3	58746500	1

ES 3 015 723 T3

(continuación)

SNP	TUT115	LYCO1	GALA1	CROMOSOMA	POSICIÓN	Donador/ recurrente
SGN-U565536_snp46769	P/P	G/G	P/P	3	59935400	1
solcap_snp_sl_15173	T/T	T/T	A/A	3	60806800	2
EE_0928_LC7606	T/T	T/T	C/C	3	60856300	2
EE_0775_LC7309	G/G	G/G	A/A	3	60862400	2
IL3_0122	T/T	T/T	C/C	3	60934800	2
EE_5812	T/T	T/T	C/C	3	61275100	2
SL10976_673_LC7290	G/G	G/G	A/A	3	62094000	2
SL10772_850_LC6617	G/G	G/G	A/A	3	62815100	2
EE_2571_LC8007	T/T	T/T	C/C	3	63616800	2
EE_3501_LC8061	A/A	A/A	C/C	3	63766900	2
EE_2924_LC7831	G/G	G/G	C/C	3	64397100	2
EP_1717_LC8068	A/A	A/A	G/G	3	64800700	2
solcap_snp_sl_55187	T/T	T/T	C/C	3		2
CL016669-0383	C/C	T/T	C/C	3		1
SL10428_501	C/C	C/C	T/T	4	2146360	2
EE_3260	NA	NA	C/C	4	9492130	2
CL017721-0135	A/A	A/A	G/G	4	9603600	2
EE_4973_LC7241	C/C	C/C	A/A	4	51709700	2
EE_4974_LC7242	G/G	G/G	A/A	4	51709900	2
EE_2179	G/G	G/G	P/P	4	54197200	2
solcap_snp_sl_58921	G/G	G/G	T/T	4	54409600	2
EE_1504	T/T	T/T	C/C	4	54754300	2
EE_1675_LC7556	A/A	A/A	G/G	4	54846200	2
solcap_snp_sl_13133	A/A	A/A	G/G	4	55086600	2
EE_0519_LC7259	G/G	G/G	A/A	4	55717100	2
SL10207_600_LC7235	C/C	C/C	T/T	4	56139200	2
SL10101_673_LC6864	G/G	G/G	A/A	4	57223700	2
EP_0368	A/A	A/A	G/G	4	57402600	2
solcap_snp_sl_11515	A/A	A/A	G/G	4	57896200	2
EE_4324_LC7699	C/C	C/C	A/A	4	58075600	2
EE_4325_LC7718	G/G	G/G	A/A	4	58075700	2
EE_6012_LC7239	NA	C/C	NA	4	58790800	1
SGN-U594049_snp94598	A/A	G/G	A/A	4	60551900	1
IL2_0224_LC7658	A/A	A/A	G/G	4	62610300	2
SL20205_697_LC7245	G/G	G/G	T/T	4	63672200	2
solcap_snp_sl_2011	A/A	A/A	T/T	4		2
EE_1982	A/A	G/G	A/A	4		1
EE_0301 $\Delta e \Delta s$ *	T/T	G/G	T/T	5	3636270	1
EE_3810_LC7374	G/G	G/G	A/A	5	4146540	2
EE_4099_LC6860	C/C	C/C	T/T	5	5887820	2
IL2_1979_LC8095	T/T	T/T	C/C	5	5971710	2
EE_2637_LC7698	A/A	A/A	G/G	5	6160880	2
EE_0853_LC6863	A/A	A/A	T/T	5	6226660	2
IL2_4587_LC7087	G/G	G/G	NA	5	6388250	2
EE_0954_LC7212	C/C	C/C	T/T	5	6457710	2
EE_4155_LC6841	C/C	C/C	T/T	5	6979790	2
EE_3256	A/A	A/A	G/G	5	7492620	2
solcap_snp_sl_13798	C/C	C/C	T/T	5	8156640	2
SL10639_108	G/G	G/G	A/A	5	8215150	2
IL3_2338	T/T	T/T	C/C	5	8967100	2
EE_4380	G/G	G/G	A/A	5	10095100	2
IL2_4686_LC5993	G/G	G/G	T/T	5	10702300	2
SL10469_816_LC7368	T/T	T/T	C/C	5	13142000	2
SL10469_202_LC7365	A/A	A/A	C/C	5	13142700	2
EP_0159	C/C	C/C	T/T	5	16804800	2
SL10526_459_LC7321	A/A	A/A	T/T	5	18738900	2
SL10526_144_LC7578	T/T	T/T	A/A	5	18738900	2
IL3_1559_LC7546	C/C	C/C	A/A	5	19274800	2
SL10100_95_LC7314	T/T	T/T	C/C	5	20574100	2
SL10100_757	G/G	G/G	A/A	5	20574700	2

ES 3 015 723 T3

(continuación)

SNP	TUT115	LYCO1	GALA1	CROMOSOMA	POSICIÓN	Donador/ recurrente
EE_1486_LC7518	G/G	G/G	A/A	5	23877100	2
IL1_6687_LC7317	T/T	T/T	C/C	5	23878300	2
CL015854-0378	T/T	T/T	C/C	5	25878300	2
IL2_4983	T/T	T/T	C/C	5	25878300	2
KGe1103_LC7548	G/G	G/G	T/T	5	39648500	2
EE_2817	A/A	A/A	G/G	5	43177000	2
KGe2770_LC7361	T/T	T/T	C/C	5	45414700	2
KGe1882	G/G	G/G	A/A	5	49402500	2
SL10373_526	T/T	T/T	C/C	5	50849700	2
Le001857_68	C/C	C/C	T/T	5	59037000	2
KGe1995	T/T	T/T	C/C	5	59037100	2
SL10724_1217_LC7835	C/C	C/C	T/T	5	59655900	2
solcap_snp_sl_12181	T/T	T/T	C/C	5	60197900	2
Le006551_63	G/G	G/G	C/C	5	62103800	2
EE_5750	C/C	C/C	T/T	5	62495900	2
EE_4363_LC7656_Δs *	G/G	T/T	G/G	6	166755	1
IL3_2569_LC7566	G/G	T/T	G/G	6	1649290	1
EE_1008_LC7515	T/T	C/C	T/T	6	1674080	1
solcap_snp_sl_65595	A/A	C/C	A/A	6	3299310	1
solcap_snp_sl_32320	C/C	T/T	C/C	6	5388530	1
solcap_snp_sl_30498	G/G	T/T	G/G	6	6794900	1
solcap_snp_sl_30511	G/G	A/A	G/G	6	8159800	1
solcap_snp_sl_31156	G/G	T/T	G/G	6	12040400	1
SL10187_425	A/A	G/G	A/A	6	12751900	1
Le004790_246	T/T	C/C	T/T	6	20347900	1
EP_0572_LC7445	T/T	C/C	T/T	6	21806900	1
EE_2362	C/C	T/T	C/C	6	29418200	1
SL10768_133	C/C	T/T	C/C	6	33808800	1
EE_2996	C/C	T/T	C/C	6	34459100	1
solcap_snp_sl_14452	A/A	G/G	A/A	6	35101900	1
SL10539_786_LC7260_Δe	T/T	G/G	T/T	6	35194800	1
solcap_snp_sl_12646	T/T	T/T	C/C	6	35677700	2
solcap_snp_sl_12638	G/G	T/T	G/G	6	36179000	1
solcap_snp_sl_12746	C/C	T/T	C/C	6	36927900	1
EE_0212_LC7755	G/G	A/A	G/G	6	41542800	1
EE_5803_LC7716	T/T	T/T	C/C	6	44134700	2
EP_1913_LC7870	A/A	A/A	G/G	6	44542800	2
SL20164_562_LC7140	C/C	C/C	T/T	6	44857700	2
EE_0497_LC7340	T/T	T/T	C/C	6		2
solcap_snp_sl_11233	C/C	T/T	C/C	7	670304	1
EE_3711_LC10116	T/T	C/C	T/T	7	994270	1
solcap_snp_sl_11205	C/C	A/A	C/C	7	1375140	1
EE_1788_LC7194	T/T	C/C	T/T	7	2240720	1
EE_2398_LC7918	G/G	T/T	G/G	7	2893460	1
IL2_1573_LC6628	T/T	C/C	T/T	7	3147390	1
EE_4619_LC7594	G/G	A/A	G/G	7	3835460	1
solcap_snp_sl_26437	T/T	C/C	T/T	7	54697000	1
EE_0993_LC7772	C/C	T/T	C/C	7	55130300	1
solcap_snp_sl_14172	C/C	A/A	C/C	7	58092200	1
CL016778-0295	T/T	A/A	T/T	7	59114500	1
3081_1_53	C/C	A/A	C/C	7	60325200	1
SL10719_49_LC7694	A/A	A/A	C/C	7	61079400	2
SL10041_719_LC7675	A/A	A/A	G/G	7	61094800	2
EP_0109_LC7882	A/A	A/A	G/G	7	61194700	2
EE_4765_LC7703	A/A	A/A	G/G	7	62265100	2
EE_2310_LC7448	A/A	A/A	G/G	7	62465700	2
EE_5773_LC7638	T/T	T/T	NA	7	62473000	2
EE_5366	G/G	G/G	A/A	7		2
EE_6087_LC7761	T/T	T/T	C/C	8	602770	2
solcap_snp_sl_4431	G/G	C/C	G/G	8	50440200	1

ES 3 015 723 T3

(continuación)

SNP	TUT115	LYCO1	GALA1	CROMOSOMA	POSICIÓN	Donador/ recurrente
solcap_snp_sl_21394	G/G	A/A	G/G	8	55659500	1
EE_1326_LC6848	T/T	C/C	T/T	8	55997400	1
EP_0889_LC6813	T/T	C/C	T/T	8	56053100	1
solcap_snp_sl_21401	C/C	G/G	C/C	8	56202000	1
EE_3574_LC7825	T/T	T/T	C/C	8	58036300	2
IL3_0456	T/T	T/T	G/G	8	59248400	2
solcap_snp_sl_15432	A/A	T/T	A/A	8	60016900	1
EE_1024	A/A	G/G	A/A	8	60035000	1
solcap_snp_sl_10181	T/T	A/A	T/T	8	61303500	1
solcap_snp_sl_29404	G/G	T/T	G/G	8		1
CL015323-0211	A/A	C/C	A/A	8		1
EP_0489_LC7684 Δs	C/C	T/T	C/C	9	3897960	1
SL10004_409_LC7341	A/A	G/G	A/A	9	4063240	1
IL2_5178	NA	T/T	NA	9	7854930	1
EE_1577_LC7366	G/G	A/A	G/G	9	11226500	1
EE_1758_LC7427	NA	A/A	NA	9	18614700	1
CL016475-0340 *	A/A	G/G	A/A	9	22094800	1
EP_0502 *	C/C	A/A	C/C	9	41847000	1
EE_4969_LC7529 *	A/A	G/G	A/A	9	49173600	1
EE_2332 *	T/T	C/C	T/T	9	54692600	1
IL2_1262	T/T	C/C	T/T	9	62444900	1
EE_1817_LC6849	A/A	G/G	A/A	9	62491400	1
EE_3482_LC7808	C/C	A/A	C/C	9	63350800	1
EE_5152_LC7199	A/A	G/G	A/A	9	63473800	1
EE_1452 Δe	T/T	C/C	T/T	9	63642500	1
EE_1806_LC7215	C/C	C/C	T/T	10	274856	2
CL015614-0412	G/G	C/C	G/G	10	468922	1
solcap_snp_sl_13200	C/C	G/G	C/C	10	1058430	1
EE_0324	T/T	T/T	C/C	10	2746430	2
SGN-U603133_snp167	T/T	T/T	C/C	10	3092680	2
EE_2689	A/A	A/A	NA	10	7364210	2
CL017204-0355	A/A	A/A	NA	10	7364210	2
EP_1264_LC7935	NA	NA	A/A	10	28869300	2
EE_6135	A/A	A/A	G/G	10	49992900	2
solcap_snp_sl_5191	G/G	G/G	C/C	10	51147000	2
solcap_snp_sl_5186	T/T	T/T	C/C	10	52254300	2
EE_4309	A/A	A/A	C/C	10	52670500	2
solcap_snp_sl_16501	C/C	C/C	G/G	10	57997200	2
SL10843_69_LC7861	T/T	T/T	C/C	10	59085800	2
solcap_snp_sl_13113	G/G	G/G	T/T	10	59255100	2
EP_0902_LC6716	G/G	G/G	A/A	10	60698100	2
IL3_2005_LC7733	T/T	T/T	NA	10	61823700	2
EE_3505_LC7711	A/A	A/A	G/G	10	61957300	2
IL2_1143_LC7218	G/G	G/G	A/A	10	62066300	2
EE_0009_LC7600	T/T	T/T	C/C	10	62724400	2
SL10786_261_LC7236	C/C	C/C	T/T	10	62802900	2
SL20016_1557_LC7848	T/T	T/T	C/C	10	64632700	2
EE_3347_LC7683	T/T	T/T	C/C	10	64633300	2
solcap_snp_sl_15641	C/C	G/G	C/C	11	436090	1
EE_0570	A/A	G/G	A/A	11	502389	1
solcap_snp_sl_10611	T/T	T/T	A/A	11	1988860	2
EP_1258_LC7710	T/T	T/T	C/C	11	3626710	2
solcap_snp_sl_15269	G/G	G/G	A/A	11	5389480	2
SL10640_256_LC7686	A/A	A/A	C/C	11	6410110	2
SL10640_602_LC7666	T/T	T/T	C/C	11	6410460	2
solcap_snp_sl_14367	A/A	A/A	C/C	11	7715560	2
solcap_snp_sl_13506	C/C	C/C	T/T	11	8640020	2
EE_4860_LC7564	G/G	G/G	C/C	11	8753140	2
EE_1605_LC7308	A/A	A/A	G/G	11	9837710	2
EE_4181_LC7643	G/G	G/G	A/A	11	10019300	2

ES 3 015 723 T3

(continuación)

SNP	TUT115	LYCO1	GALA1	CROMOSOMA	POSICIÓN	Donador/ recurrente
EE 2849 LC7237	A/A	A/A	NA	11	15654300	2
CL016179-0556	A/A	A/A	G/G	11	35287700	2
solcap_snp_sl_13126	C/C	C/C	T/T	11	35863500	2
solcap_snp_sl_13123	T/T	T/T	C/C	11	36376700	2
solcap_snp_sl_10890	C/C	C/C	T/T	11	45230400	2
solcap_snp_sl_10899	C/C	C/C	T/T	11	45816700	2
solcap_snp_sl_10900	C/C	C/C	T/T	11	45816800	2
solcap_snp_sl_10969	G/G	G/G	A/A	11	46395700	2
EE 4526	A/A	A/A	C/C	11	47595400	2
EP 1594 LC6817	C/C	C/C	A/A	11	49928100	2
IL3 1995 LC6827	G/G	G/G	A/A	11	50098600	2
EE 3018 LC7246	C/C	C/C	T/T	11	51502700	2
EE 4777 LC7555	T/T	T/T	C/C	11	52142200	2
EE 1598 LC6842	G/G	G/G	A/A	11	52225900	2
EE 1639 LC8071	T/T	T/T	C/C	11	52645000	2
SL10027 680 LC7770	A/A	A/A	T/T	11	53186500	2
solcap_snp_sl_15247	A/A	A/A	G/G	11		2
EE 5199 LC7352	T/T	T/T	C/C	11		2
SL10204 1269 Δs *	C/C	T/T	C/C	12	124598	1
SGN-U573565 snp665 *	A/A	T/T	A/A	12	155493	1
EE 0924 Δe *	T/T	C/C	T/T	12	1166000	1
solcap_snp_sl_1495	A/A	A/A	G/G	12	3252080	2
SL10795 222	A/A	A/A	G/G	12	3767860	2
solcap_snp_sl_14758	T/T	T/T	C/C	12	4462020	2
IL3 0004	A/A	A/A	G/G	12	4462020	2
solcap_snp_sl_9707	A/A	A/A	C/C	12	5718730	2
solcap_snp_sl_59718	A/A	A/A	G/G	12	6660010	2
solcap_snp_sl_24755	G/G	G/G	C/C	12	7801440	2
EE 3447	C/C	C/C	T/T	12	8948060	2
solcap_snp_sl_40598	G/G	G/G	A/A	12	8948060	2
solcap_snp_sl_1289	G/G	G/G	A/A	12	9917930	2
solcap_snp_sl_1295	T/T	T/T	C/C	12	12758600	2
solcap_snp_sl_40622	T/T	T/T	G/G	12	12760400	2
SL10352 214 LC7623	T/T	T/T	C/C	12	12871800	2
EE 4807 LC7624	T/T	T/T	C/C	12	14337200	2
EE 5237	NA	NA	G/G	12	14640400	2
EE 5238 LC7619	A/A	A/A	G/G	12	14640600	2
solcap_snp_sl_53084	T/T	T/T	C/C	12	17503100	2
solcap_snp_sl_53090	T/T	T/T	C/C	12	19452500	2
solcap_snp_sl_17184	G/G	G/G	A/A	12	23240100	2
solcap_snp_sl_42961	A/A	A/A	T/T	12	24101300	2
EE 0461	T/T	T/T	C/C	12	37136500	2
solcap_snp_sl_52407	T/T	T/T	C/C	12	37672700	2
solcap_snp_sl_59087	T/T	T/T	G/G	12	39221700	2
EP 0926 LC7289	G/G	G/G	A/A	12	40771200	2
solcap_snp_sl_59093	T/T	T/T	C/C	12	40776000	2
solcap_snp_sl_52539	G/G	G/G	A/A	12	42568300	2
EP 0768 LC7607	A/A	A/A	G/G	12	43619100	2
EE 0865 LC7616	T/T	T/T	C/C	12	43643700	2
3132 3 136	C/C	C/C	T/T	12	43645100	2
EE 3443 LC7302	G/G	G/G	A/A	12	43799100	2
EE 5488	A/A	A/A	C/C	12	44347200	2
EE 4018 LC7618	A/A	A/A	G/G	12	44634400	2
solcap_snp_sl_12389	T/T	T/T	C/C	12	44709600	2
EP 1486 LC7832	A/A	A/A	G/G	12	63255200	2
SL10823 84 LC7816	A/A	A/A	G/G	12	63538200	2
SL10329 708 LC6736	C/C	C/C	A/A	12	63612300	2
EE 3321 LC7974	A/A	A/A	G/G	12	64623500	2
SL10284 439	A/A	A/A	G/G	12	65136500	2
EE 5042 LC6684	C/C	C/C	T/T	12	65148800	2

Conclusión

Doce marcadores se asociaron significativamente con la medición PLA de resistencia a la polilla del tomate sudamericana, junto con explicación del 55% de la varianza fenotípica observada. Nueve de estos marcadores también se asociaron significativamente con otras mediciones de resistencia, particularmente LLT y OPD, que refuerzan la confianza de estos marcadores. La correlación significativa a las diferentes mediciones de los atributos sugiere que estos marcadores se ligan a un mecanismo de resistencia general.

Validación del marcador

Los marcadores se validan al cruzar la línea TUT115, que mostró la resistencia más alta con relación a las RILs sometidas a prueba, con una línea susceptible. La F1 resultante se autofecunda, y se recolecta una población grande de semillas F2. Las plantas se desarrollan y se genotifican. Una selección de la progenie F2 se autofecunda hasta F3. Las familias F3 se genotifican como se describe en el ejemplo 1. Se evalúa la ligación de cada marcador al fenotipo de resistencia.

Plan de reproducción

De las plantas F2 descritas en lo anterior, se selecciona un conjunto. Cada planta F2 lleva un subconjunto de los marcadores validados, donde todas las plantas F2 seleccionadas cubren juntas todos los marcadores validados. Cada planta F2 se retrocruza a una línea de reproducción en un esquema de retrocruzamiento asistido por marcador. Las plantas que tienen los marcadores relevantes así como el porcentaje más alto de marcadores de línea de reproducción se seleccionan a una segunda ronda de retrocruzamiento. Este proceso se repite a una tercera ronda de retrocruzamiento dando por resultado un conjunto de líneas con un alto porcentaje de fondo de líneas de reproducción, que cada uno tiene un subconjunto homocigoto de los marcadores ligados a la resistencia requerida. Después las líneas se cruzan a su vez a fin de acumular ("pirámide") todos los marcadores requeridos en una línea o variedad comercial.

Planteamiento

La resistencia a la polilla sudamericana es un atributo complejo, definido probablemente por varios genes {Maluf 1997, 2010a}. Los inventores describen en este punto la identificación de una fuente resistente, y líneas endogámicas recombinante resistentes ideadas de esta fuente. Además, identificaron un grupo de marcadores correlacionados significativamente con la resistencia, identificando la línea resistente. Puesto que este atributo se afecta en gran medida por el medio ambiente {Resende 2002}, no toda la varianza observada se explica sin embargo por los marcadores genéticos como se muestra por la heredabilidad calculada de 0.6.

Ejemplo 3: Determinar la resistencia de las RIL's identificadas de *GALA1* contra organismos adicionales

Arañas rojas (*Tetranychus urticae*)

Materiales y métodos

Diseño experimental

En una instalación de elección experimental, se sometieron a prueba 19 genotipos para su idoneidad para criar arañas rojas. Las plantas de prueba se desarrollaron, como se describe en la sección de crianza de plasma germinal de tomate (*Ejemplo 1*), hasta que las plantas alcanzaron la etapa de tener 4 hojas verdaderas. Una idoneidad del genotipo para la crianza de arañas rojas se midió al registrar los síntomas de alimentación en combinación con las hormigas rojas y los capullos tejidos construidos por las especies de arañas bajo prueba. El experimento contuvo dos repeticiones experimentales a través del tiempo, por repetición experimental hubo 3 repeticiones con cada 11 plántulas por genotipo (26°C; 16hr de luz: 8hr de oscuridad).

Método de infestación:

Las plantas de prueba se infestaron tres semanas después del plantado al colocar hojas sumamente infestadas de la crianza de arañas rojas hacia abajo sobre las plantas de prueba. Las hojas usadas para la infestación se colocaron cercanas entre sí a fin de crear una superficie de las hojas por arriba de las plantas de prueba. Después de la infestación, las plantas se irrigaron usando un sistema de anegación. Dos días después de la infestación fueron removidas las hojas que se usaron para la infestación.

Método de clasificación:

La población de arañas rojas alcanzó un pico después de dos a tres semanas. Tres semanas después de la infestación se registraron los niveles del daño por alimentación. Las plantas susceptibles o resistentes se definieron

por la cantidad y la distribución de la población y se indexaron por una escala de 0-3 (ver a continuación):

0 – Una hoja limpia sin arañas rojas o daño por alimentación al tejido. Nota: aún se podría observar un número de arañas rojas centradas en un lugar en la hoja.

1 – Presencia de arañas rojas en un área definida que no cubrieron la hoja completa. En esta área, fueron observados los síntomas de alimentación. Las hojas continuaron desarrollándose, pero la población de arañas rojas no se desarrolló.

2 – Una superficie de la hoja se cubrió con arañas rojas y fueron notables los síntomas del daño por alimentación clara.

3 – Una hoja se cubrió con arañas rojas y telarañas. Las hojas mostraron síntomas claros de clorosis o necrosis.

Los síntomas de la planta de 0-1 indican plantas resistentes. Los síntomas de las plantas de 2-3 indican plantas susceptibles (ver FIGURA 4 para ilustración).

Resultados:

Los niveles de resistencia de las líneas RIL individuales se compararon con los niveles de resistencia con la precursora recurrente, es decir *LYCO1*, usando una prueba de diferencia Hsu-Dunnett LSMeans Difference. El registro medio de cada línea sometida a prueba se ajustó al ingresar las notas de observación como un efecto en el modelo lineal. Los datos obtenidos indicaron que casi todas las líneas RIL sometidas a prueba fueron significativamente más resistentes contra las arañas rojas que cuando se compararon con la precursora recurrente (ver FIGURA 5).

Conclusión:

Las líneas RIL sometidas a prueba fueron mucho más resistentes, pero estas líneas fueron menos resistentes comparadas con la *GALA1* precursora. Por lo tanto se concluye que el donador y también casi todas las líneas RIL contienen atributos de resistencia que impiden la acumulación de la población para las especies de arañas rojas sometidas a prueba, que se determina por el registro de la distribución de la población por genotipo usando los síntomas por alimentación y la densidad de arañas rojas y capullos tejidos como parámetros.

Mosca blanca (*Bemisia tabaci*)

Material y métodos

Diseño experimental

En un ensayo de elección las guías de RIL se sometieron a prueba para la resistencia contra la mosca blanca Hemíptera. Como una medición de la resistencia el éxito de la acumulación de una población de moscas blancas en una planta se registró al contar los números de ninfas de moscas blancas recientemente desarrolladas. Las líneas RIL sometidas a prueba TUT103, TUT112, TUT115, y la *GALA1* donadora, la *LYCO1* precursora recurrente y la línea de crianza de polillas del tomate *LYCO2*, se desarrollaron como se describe en la sección *cría de plasma germinal de tomate (Ejemplo 1)*. Las plantas experimentales se dividieron aleatoriamente sobre tres jaulas experimentales (0,9m de ancho * 8,0m de longitud * 0,6m de altura) en un invernadero (temperatura: +/-30°C en el día y +/-20°C en la noche). Las jaulas experimentales alojaron al menos 6 plantas por plasma germinal sometido a prueba. Se marcaron tres hojas completamente desarrolladas consecutivas comenzando en la parte superior de una planta.

Método de infestación:

Para la infestación se usó una colonia de moscas blancas criadas en algodón. La infestación se condujo al introducir aproximadamente cien moscas blancas adultas de 5-10 días de edad por planta de prueba. Los adultos introducidos se dejaron oviposicionarse durante siete días después de lo cual se exterminaron con insecticida Talstar (*pyrethroid* Bifenthrin).

Método de clasificación:

Catorce días después de la infestación las linfas se contaron desde el lado del fondo de las hojas marcadas previas. Para este fin, se clasificaron cinco áreas aleatoriamente de 2 cm² por hoja para las linfas que usando una lupa (6X).

Resultados:

Se midieron el número de linfas por hoja. El número medio de linfas por genotipo se ajustó al usar la tabla y la posición de la hoja como un efecto en un modelo lineal. Los datos obtenidos se compararon usando una prueba de Tukey Kramer. Todas las líneas RIL fueron significativamente más resistentes.

Tabla 8: Resistencia del tomate contra la mosca blanca.

El número medio de linfas de mosca blanca se analizó usando una prueba HSD de Tukey Kramer: los genotipos con la misma letra de agrupamiento de signo no difiere significativamente.							
Plasma germinal	Número medio de ninfas	SE	última media cuadrática	Agrupamiento individual			
GALA1	12,23	1.87	11.76		C		
TUT112	4,59	1.46	4.79	D			
TUT115	10,15	1.52	9.95	D	C		
TUT103	19,45	1.36	19.27			B	
LYCO1	26,05	1.52	25.85				A

Conclusión

- 5 Todos los genotipos sometidos a prueba fueron más resistentes contra las moscas blancas comparados con la *LYCO1* precursora recurrente. Por otra parte, este bioensayo indica que la línea RIL sometida a prueba TUT112 es más resistente contra la acumulación de población de moscas blancas (es decir presencia de linfas) comparada con la *GALA1* donadora.

10 **Tisanópteros de Flor del Oeste (*Frankliniella occidentalis*)**

Material y métodos

- 15 Los atributos de resistencia de las guías RIL prometedoras identificadas se sometieron a prueba contra el insecto Tisanóptero *F. occidentalis*. Las líneas de RIL de tomate resistentes prometedoras, la donadora y la precursora recurrente se sembraron y se criaron en charolas de vivero (54 agujeros de 5.08 cm (2")/charola) llenada con tapones de grano de roca. Las plántulas que tienen 1-2 hojas verdaderas se trasplantaron en lana de roca (10*10*6,5cm). Dieciséis plantas por plasma germinal se transfirieron a un invernadero sin insectos para desarrollo adicional, y se dividieron sobre dos jaulas. Cuando las plantas tuvieron 5-8 hojas verdaderas, se infestaron con 20 tisanópteros por planta. El daño por alimentación se registró al registrar el número de folíolos infestados para las
- 20 hojas verdaderas consecutivas A, B, & C, comenzando a contar desde los cotiledones.

Resultados

- 25 Los niveles de resistencia para las líneas RIL individuales se compararon con los niveles de resistencia de la precursora recurrente, es decir *LYCO1*, usando una prueba de diferencia Hsu-Dunnnett LSMeans (ver FIGURA 6). El registro medio de cada línea sometida a prueba se ajustó al ingresar las notas de observación como un efecto en el modelo lineal.

30 **Conclusión:**

Las líneas RIL TUT101 y TUT115 fueron significativamente más resistentes contra el daño por los tisanópteros comparado con la *LYCO1* precursora recurrente. Estas dos líneas RIL mostraron niveles de *GALA1* de resistencia contra los tisanópteros.

35

Ácaros rojizos del tomate (*Aculopus lycopersici*)**Materiales y métodos**

40 **Diseño experimental**

- En una instalación experimental no de elección, se sometieron a prueba 5 genotipos por su idoneidad para acumular una población de ácaros rojizos. Las plantas de prueba se desarrollaron, como se describe en la sección cría de plasma germinal de tomate (*Ejemplo 1*), hasta que las plantas alcanzaron la etapa de tener 6-8 hojas verdaderas. La idoneidad del genotipo para la acumulación de la población se midió al registrar los síntomas por alimentación en combinación con la gravedad observada de la población de ácaros rojizos.
- 45

Método de infestación:

- 50 Las plantas de prueba se infestaron seis semanas después del sembrado al colocar hojas sumamente infestadas de una crianza de ácaros rojizos de tomate hacia abajo sobre las plantas de prueba. Después de la infestación, las plantas se irrigaron irregularmente usando 20:20:20 NPK. Dos días después de la infestación las hojas usadas para infestación se removieron (26°C; régimen de 16hr de luz: 8hr de oscuridad).

55 **Método de clasificación:**

La población de ácaros rojizos de tomate se registró 2 semanas después de la infestación al determinar la gravedad de la población de ácaros rojizos presentes y los síntomas de la alimentación observados.

Resultados:

5

Tabla 9: Resistencia contra los ácaros rojizos del tomate

Genotipo	Población de ácaros rojizos	Síntomas de la alimentación
LYCO2	Abundante	necrosis grave + clorosis
TUT103	Abundante	necrosis grave + clorosis
TUT110	Abundante	necrosis grave + clorosis
TUT115	Deficiente	algo de necrosis
GALA1	Deficiente	algo de necrosis

Conclusión:

- 10 Los datos cualitativos obtenidos sugirieron que TUT115 contiene las características de resistencia de la GALA1 donadora que podrían provocar ninguna preferencia.

Ejemplo 4: Secuencias de flanqueo de los SNPs de la invención.

- 15 Las secuencias de flanqueo de los 12 SNPs de la invención y de los 12 SNPs alternativos de la invención se proporcionan en la presente en la tabla 10.

Tabla 10:

SNP	secuencia de flanco 5'	secuencia de flanco 3'
solcap_snp _sl_18619	CAAAATTTGGGAGAGCTGAAGCAGAGTTTCCCACTCAAGGTAATGTAT A (SEQ ID N.1)	AGCTAGTCAAAAAGTATGCCAGTTGTGTCCTGTGCTTGTGTATATAGTTT (SEQ ID N.2)
solcap_snp _sl_12348	AGTCTCTAACCAATCAAGTTGGTGGGATATAGGCTCAGACATTGAGCTG G (SEQ ID N.3)	ACATTCATCTGATTCGGATCAAGAAGTTGATGATTACGATGACCTTCCAC (SEQ ID N.4)
EP_1592_ LC7762	GAGAAAAAGACCATTAGACAAAAAGGTTGTTTGTATAGCTACGGAGA AAAAAGAGAAAG (SEQ ID N.5)	ATAGAGAAAAAGCAAAAACAGGGAGATGAAAGGGGGTCTCTAATGGGA GATCCATTCCCT (SEQ ID N.6)
EE_0301	TAAACTAAAGTCTCCTTTATTTTTCATCAATAACCTTATAACTAACTTAAG TAAACA (SEQ ID N.7)	AGGCAATTTTATCGACACCACCAATATAAACTAAACTTAAATCCCCATTTT CCAAGACAT (SEQ ID N.8)
EE_4363_ LC7656	CTGAAGGTCCAGACCACCTGTACTGCCCTTCTCCACACCTATGTCCAGC ATAAGGACACT (SEQ ID N.9)	CTAAAGCTGAGTCTTTGATGGAAAAAATGTCTGAATGCGGGGTTCTGAA GTACCTCTTC (SEQ ID N.10)
CL016475- 0340	AATAATCTCCCTCCTTTAAACITGGAGTATTGAAATATCACAGTTTCCGA TCCACACAAGGAAATACAAAGCATCCCCCTCAATTGTTCTCTGGCACTAAT (SEQ ID N.11)	CTTATGTAACCTATTAAATACCACACAAAACCAATTTACCTGATTATGGA GGAACGATTTCANTGTTCTGTAGACGCTTTAAAGACATTTGTACTTTTATC (SEQ ID N.12)
EP_0502	GATGATGAAAAGGTGGGATTATTACAAAGTACTTTCTGCAATTGCTTCCCTT TGTGTGGCC (SEQ ID N.13)	TCACTGCTGTTGCTGCTCTTTCTCACCCCTTCAACTTTCACATGGGTTTCT AAAGATTGT (SEQ ID N.14)
EE_4969_ LC7529	GCCGGGATAGCTAACACACCAATATTATTAATTAGAGAAATCAATTATG GAGATC (SEQ ID N.15)	ATGGAACTCAATGATGTTCTTTCACATAGTTTGTTCCTTTTTTTTCGC ATTTGGTCAT (SEQ ID N.16)
EE_2332	AAGTTGCAAGAGTTGCTTTTGCCCTCGCTTCTGTTGATGCTGATGCTA TAGTAACCT (SEQ ID N.17)	GAATGGTTCCTACCAATTGACCAAAATGCTTCTCATGACCAGCATAGTCC TTACATATATA (SEQ ID N.18)
SL10204_1 269	GTCTAGTATTGTTGTAAGAAATGCTGGAAGAGGCATTTGTGATTATAAAG AAACTTGGCA (SEQ ID N.19)	GATAGGTTATAACACACAGCATAAATCTATATCTAATTCACITGAACATTA CACAAAG (SEQ ID N.20)
SGN- U573565_s np665	GGCTTCAATATTGACTGTAAATGAAGGAGATTCTGATACATTGTACCCAA (SEQ ID N.21)	GCCTGCTGTGATTTTAAATCCTAAATGGGGTTTTTGATGAAGAGAGTAGTT (SEQ ID N.22)
EE_0924	TATTACGGAATCTACTGTAACGTTATCAGAAGCTCTGCTGAACTTCCAG GTGAAAGGAC (SEQ ID N.23)	GAAGTGGTCTCTATATCCCTAGATGCCTTGTCTTTGGAGAAACCATGAAA TAAAGAAGATG (SEQ ID N.24)
EE_1452	GTCCGAAGATGCGTGAGATCATGGTTAACCCAGGCACAAATCGTGTGATT GAAAGACTTGG (SEQ ID N.25)	CCTGAAGTTCATTCTCGAATCAATCCGTAGAGAGATTGAGAAGGCAACT TCAAGCATCTA (SEQ ID N.26)
EE_2996	ATGGGTGGTTTTTGGAGAACATATCGTATGGGCAGCTTCAGGCGCTTTC AGTGTGCTCG (SEQ ID N.27)	AGATAGTCACTCTTTGTTGACTGAGGAAAGAGCGGGGAAGGTAGTGG GAGTGGTTCATA (SEQ ID N.28)
IL2_5178	TTACTCTTCGGTGTGTTGAGGATCTTGTTCAGAGGGGTTTTTTGAGCCCAA ATTCAAAAAC (SEQ ID N.29)	CTTCCGTTGAAACACCGGATGGGTTCTGATGTTTTTTCGGTTGAGGGGAAA TTGGGTAGCC (SEQ ID N.30)
EE_2362	AGTTCCAATTCCAGAAATCGAAGCCTTCCAACTCTCATCCACGCTTGGTG ATTGCAAAAGG (SEQ ID N.31)	CTTGGGACCGCGGATAAATGGTGACTTTTGAACATTTTACAGCTACACCT AACAAGATTIT (SEQ ID N.32)
SL10187_ 425	TTTTACTTTTAAATTTTGCTGTTTGTGAAGTAGGGATATGAATAAAATT (SEQ ID N.33)	TTGGTCCCTTCTGTACAAATAGGAATGTAAGAACTAGCATATGAGGGAT C (SEQ ID N.34)

(continuación)

SNP	secuencia de flanco 5'	secuencia de flanco 3'
solcap_sn p_sl_15339	AAGAGGGCAAAAAATGGCTGTAGCACTCTTTGGGGAGTATTTCCCTTTTCG T (SEQ ID N.35)	CTCCATGCCCTTCTATATCTTCCCTTCTCTCCAAACAGCGCTTTCAACTTCA (SEQ ID N.36)
solcap_sn p_sl_32320	AACGCCAGCAATGGAAAAGCAACTTGAGATCGCGTCCACAGTTGGTGCA T (SEQ ID N.37)	GGTTGCTAAATCCAAACAGGCCCAATGAAGTAGGTGATTTTGGTGGTAGT T (SEQ ID N.38)
solcap_sn p_sl_40154	GGCGCCTAGAACTGCTTCTCTTTCTTTGACGCGGAACCTCTGCTCTTT (SEQ ID N.39)	TCTCATCCAAACCACTCACTGCTGGGAATCTGTATTACGATCTTCTCTGCTA (SEQ ID N.40)
solcap_sn p_sl_59890	ATGTTAACTGAAATTCATACATCCACGTTAACAGGAAACATCGTAGTTC (SEQ ID N.41)	CTTCTAGCAAGAACTTTTACCCCTGTAATTTGAAATCCAAACAAACCCAGA (SEQ ID N.42)
EP_0489_... LC7684	AAACCCCAATTTCTCCGGCGGATCAGTTCTCTCTCTTTTGTGATCTCATTT TTCGATTCTC (SEQ ID N.43)	GATCAGTTTACAGATCCGATTTCCAGTCACTTCCGAATCCGATCCCGGT CAGATGGCGGC (SEQ ID N.44)
EE_3482_... LC7806	CTAGACAGTAGTGACCAAACTCTTGGTGTCCCGGTAAGTTTATAGAGTAT AATAAACCCA (SEQ ID N.45)	AGGACTCGAAAAACATTAGCTCAGATGATGACCTTGTGTAAATTTTC GTATTGGTAT (SEQ ID N.46)
SL10539_7 86_LC7260	CTCTAGCCCATCCTTTATACACAGAGGGCGGACCCACATCGGGGAGTTC CTGGACGAACA (SEQ ID N.47)	AGCATGGAGTCAAGTTTCTGCTGAATCTTCTGTATTATAAAATTGATAGA GACTTACCAC (SEQ ID N.48)

Referencias

- De Azevedo y colaboradores; Euphytica 134:347-351 (2003)
- 5 Barrett y colaboradores Bioinformatics 21(2): 263-265(2005)
- Bombarely y colaboradores; Nucleic Acids Res. January; 39: D1149–D1155 (2011)
- Broman y Sen; A guide to QTL Mapping with R/qlt. Springer (2009)
- Ecole y colaboradores; J. Appl. Ent. 125, 193-200 (2001)
- Eigenbrode y Trumble; J. Amer. Soc. Hort. Sci 118(4): 525-530 (1993)
- 10 Erb y colaboradores, Journal of Economic Entomology; 86(1); 100-109 (1993)
- Lewontin. Genetics 49 (1): 49–67, (1964)
- Maluf y colaboradores Euphytica 93 (2): 189-194; (1997)
- Maluf y colaboradores Euphytica 176:113–123; (2010a)
- Malouf y colaboradores Crop Science, vol 50, 439-450; (2010b)
- 15 Momotaz y colaboradores, J. Amer. Soc. Sci. 135(2):134-142 (2010)
- Oliveira y colaboradores, Scientia Horticulturae 199; 182-187 (2009)
- Resende y colaboradores Genet. Mol. Res. 1 (2): 106-116; (2002)
- Resende y colaboradores; Sci. Agric., v.63, n.1; 20-25; (2006)
- Schoonhoven y colaboradores Insect-Plant Biology. Chapman & Hall (1998)
- 20 Simmons y colaboradores, Euphytica; 144(3), 313-320 (2005)
- Villalta y colaboradores, Theoretical and Applied Genetics; 114(6); 1001-1017 (2007)
- Zar, Biostatistical Analysis. Fifth Edition. Prentice Hall, (2010)
- Zadoks y colaboradores (1974). *Weed Research* **14** (6): 415–421

REIVINDICACIONES

1. Una planta de *S. lycopersicum*, que es resistente a una plaga de artrópodos y resistente a ToMV (Virus del Mosaico del Tomate), caracterizada por que comprende en su genoma secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren resistencia a la plaga de artrópodos,

caracterizada por que las secuencias con introgresión se eligen de aquellas presentes en el genoma de una planta de la línea TUT115 del número de acceso NCIMB 42109 e incluyen

- i. el fragmento comprendido entre los SNP solcap_snp_sl_59890 y solcap_snp_sl_15339 en el cromosoma 1 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 y/o
- ii. el fragmento comprendido entre los SNP solcap_snp_sl_40154 y EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 y/o
- iii. el fragmento comprendido entre los SNP EE_4363_LC7656 y SL10539_786_LC7260 en el cromosoma 6 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 y/o
- iv. el fragmento comprendido entre los SNP EP_0489_LC7684 y EE_1452 en el cromosoma 9 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109 y/o
- v. el fragmento comprendido entre los SNP SL10204_1269 y EE_0924 en el cromosoma 12 de una planta de la línea TUT115 número de acceso NCIMB 42109,

en donde las secuencias flanqueantes 5' y 3' de solcap_snp_sl_59890 son SEQ ID No: 41 y SEQ ID No: 42 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de solcap_snp_sl_15339 son SEQ ID No: 35 y SEQ ID No: 36 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de solcap_snp_sl_40154 son SEQ ID No: 39 y SEQ ID No: 40 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EP_1592_LC7762 son SEQ ID No: 5 y SEQ ID No: 6 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EE_4363_LC7656 son SEQ ID No: 9 y SEQ ID No: 10 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de SL10539_786_LC7260 son SEQ ID No: 47 y SEQ ID No: 48 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EP_0489_LC7684 son SEQ ID No: 43 y SEQ ID No: 44 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EE_1452 son SEQ ID No: 25 y SEQ ID No: 26 respectivamente, las secuencias flanqueantes 5' y 3' de SL10204_1269 son SEQ ID No: 19 y SEQ ID No: 20 respectivamente y las secuencias flanqueantes 5' y 3' de EE_0924 son SEQ ID No: 23 y SEQ ID No: 24 respectivamente.

2. La planta de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada por que las secuencias con introgresión incluyen al menos dos de dichos fragmentos (i) a (v).

3. La planta de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada por que las secuencias con introgresión incluyen tres o cuatro de dichos fragmentos (i) a (v).

4. Una planta de *S. lycopersicum* de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que las secuencias con introgresión de *S. galapagense* están homocigotamente presentes en el genoma de la planta.

5. Una planta de *S. lycopersicum* de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por la presencia en el genoma de dicha planta de *S. lycopersicum* de al menos uno de los siguientes alelos:

- alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619 en el cromosoma 1, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 1 y SEQ ID No: 2, respectivamente,
- alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348 en el cromosoma 1, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 3 y SEQ ID No: 4, respectivamente,
- alelo C de SNP EP_1592_LC7762 en el cromosoma 1, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 5 y SEQ ID No: 6, respectivamente,
- alelo T de SNP EE_0301 en el cromosoma 5, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 7 y SEQ ID No: 8, respectivamente,
- alelo G de SNP EE_4363_LC7656 en el cromosoma 6, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 9 y SEQ ID No: 10, respectivamente,
- alelo A de SNP CL016475-0340 en el cromosoma 9, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 11 y SEQ ID No: 12, respectivamente,
- alelo C de SNP EP_0502 en el cromosoma 9, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 13 y SEQ ID No: 14, respectivamente,
- alelo A de SNP EE_4969_LC7529 en el cromosoma 9, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 15 y SEQ ID No: 16, respectivamente,
- alelo T de SNP EE_2332 en el cromosoma 9, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 17 y SEQ ID No: 18, respectivamente,
- alelo C de SNP SL10204_1269 en el cromosoma 12, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 19 y SEQ ID No: 20, respectivamente,
- alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 en el cromosoma 12, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del

SNP SEQ ID No: 21 y SEQ ID No: 22, respectivamente, y

- alelo T de SNP EE_0924 en el cromosoma 12, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 23 y SEQ ID No: 24, respectivamente.

- 5 6. La planta de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que las secuencias con introgresión constituyen los Sitios de Atributos Cuantitativos (QTL) que subyacen al atributo que corresponde a la resistencia a la plaga de artrópodos.
- 10 7. La planta de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que comprende el alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348, alelo C de SNP EP_1592_LC7762, alelo T de SNP EE_0301, alelo G de SNP EE_4363_LC7656, alelo A de SNP CL016475-0340; alelo C de SNP EP_0502, alelo A de SNP EE_4969_LC7529, alelo T de SNP EE_2332, alelo C de SNP SL10204_1269, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665 y alelo T de SNP EE_0924.
- 15 8. La planta de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que los artrópodos son insectos.
- 20 9. La planta de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada por que el artrópodo es la polilla sudamericana *T. absoluta*.
10. La planta de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizada por que los artrópodos se eligen de mosca blanca, tisanópteros y arañas rojas.
- 25 11. La planta de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizada por que la resistencia se mide por el Porcentaje de Folíolos Atacados, de manera preferente a los 8 días después de la infestación.
12. Una célula de una planta de *S. lycopersicum* de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada por que comprende en su genoma secuencias con introgresión de *S. galapagense* que confieren resistencia a la plaga de artrópodos, caracterizada por que las secuencias con introgresión se eligen de aquellas presentes en el genoma de una planta de la línea TUT115 (número de acceso NCIMB 42109) e incluyen uno cualquiera de los fragmentos i) a v) de conformidad con la reivindicación 1.
- 30 13. La parte de la planta de una planta de *S. lycopersicum* de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en particular semillas, material reproductor, raíces, flores, frutos, rizoma o vástago, caracterizada la parte de la planta por que comprende células de conformidad con la reivindicación 12.
- 35 14. Una semilla de una planta de *S. lycopersicum*, caracterizada porque se desarrolla a una planta de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
- 40 15. Un método para detectar y/o seleccionar las plantas de *S. lycopersicum* que tienen secuencias con introgresión de *S. galapagense* como se encuentra en el genoma de una planta de la línea TUT115 (número de acceso NCIMB 42109), confiriendo las secuencias con introgresión resistencia a los artrópodos, caracterizado por que comprende la detección de al menos uno de los siguientes marcadores: alelo G de SNP solcap_snp_sl_18619, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 1 y SEQ ID No: 2, respectivamente, alelo C de SNP solcap_snp_sl_12348, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 3 y SEQ ID No: 4, respectivamente; alelo C de SNP EP_1592_LC7762, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 5 y SEQ ID No: 6, respectivamente, alelo T de SNP EE_0301, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 7 y SEQ ID No: 8, respectivamente, alelo G de SNP EE_4363_LC7656, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 9 y SEQ ID No: 10, respectivamente, alelo A de SNP CL016475-0340, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 11 y SEQ ID No: 12, respectivamente; alelo C de SNP EP_0502, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 13 y SEQ ID No: 14, respectivamente, alelo A de SNP EE_4969_LC7529, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 15 y SEQ ID No: 16, respectivamente, alelo T de SNP EE_2332, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 17 y SEQ ID No: 18, respectivamente, alelo C de SNP SL10204_1269, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 19 y SEQ ID No: 20, respectivamente, alelo A de SNP SGN-U573565_snp665, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 21 y SEQ ID No: 22, respectivamente y alelo T de SNP EE_0924, siendo las secuencias flanqueantes 5' y 3' del SNP SEQ ID No: 23 y SEQ ID No: 24, respectivamente, en una muestra de material genético de la planta que se va a seleccionar.
- 55 16. Una planta híbrida de *S. lycopersicum*, caracterizada por que es obtenible al cruzar una planta de *S. lycopersicum* con una planta resistente de conformidad con la reivindicación 4.
- 60

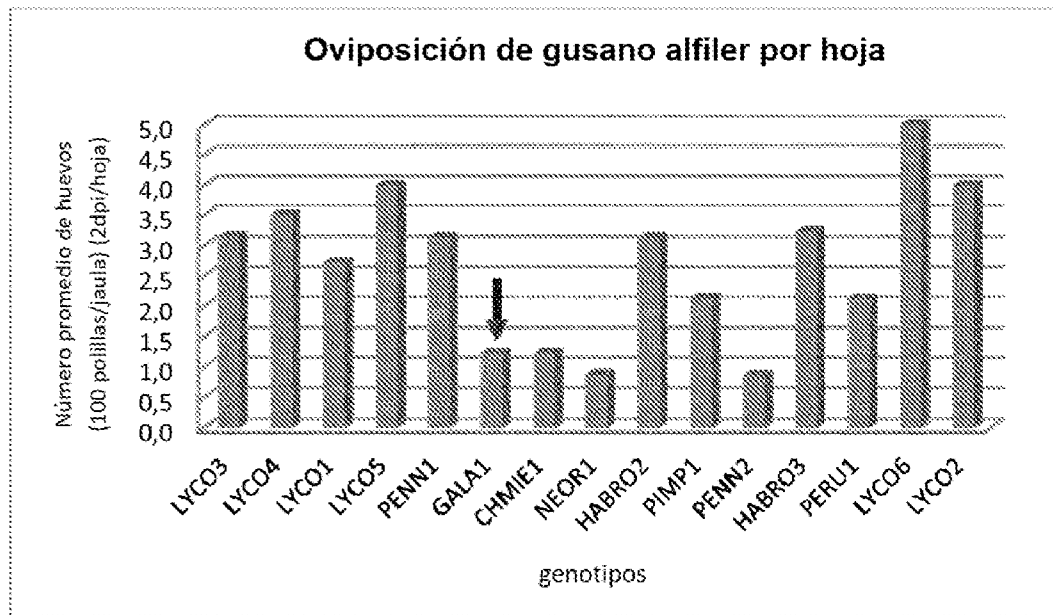


FIG. 1

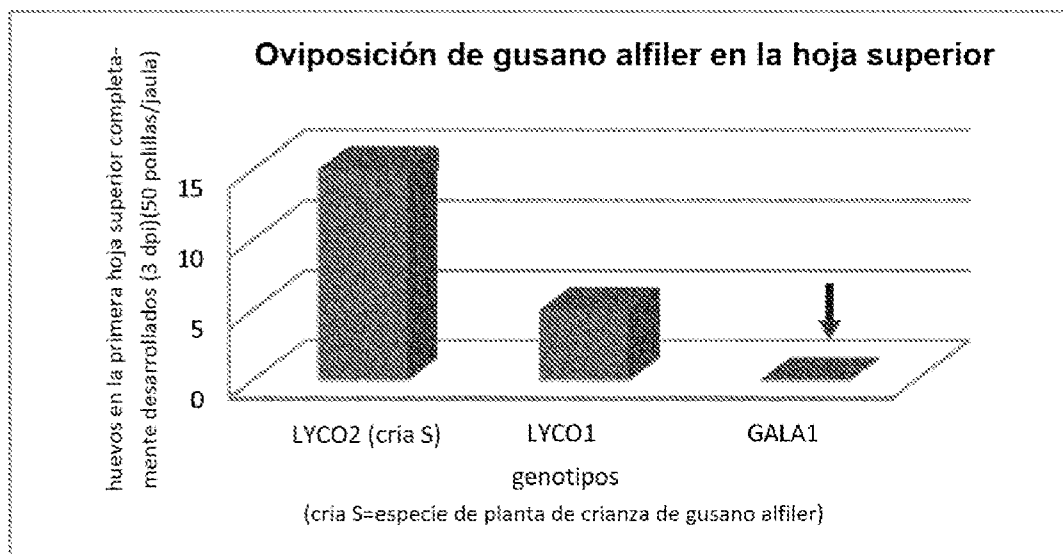


FIG. 2

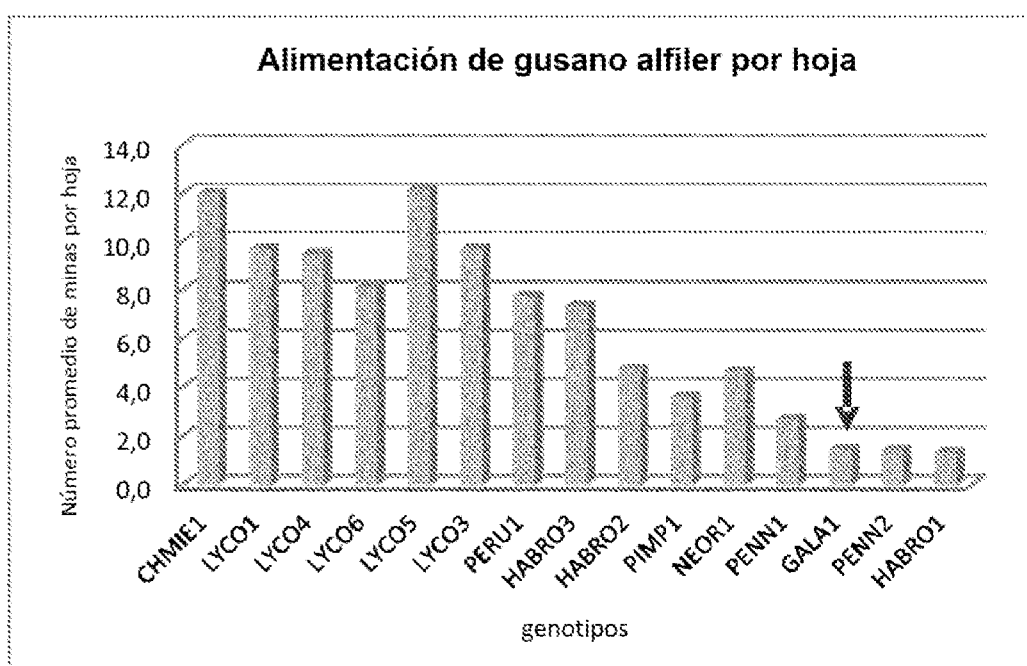


FIG. 3

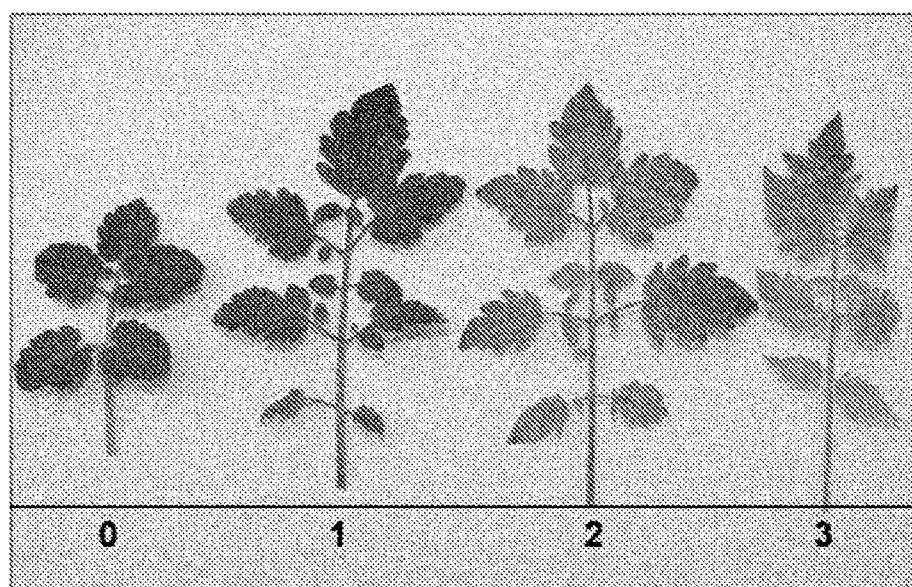


FIG. 4

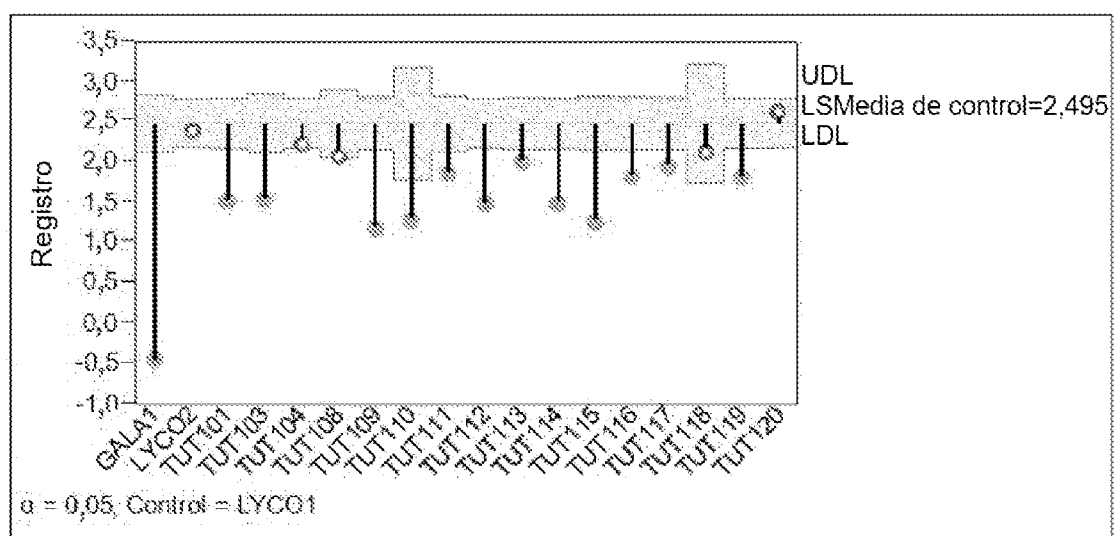


FIG. 5

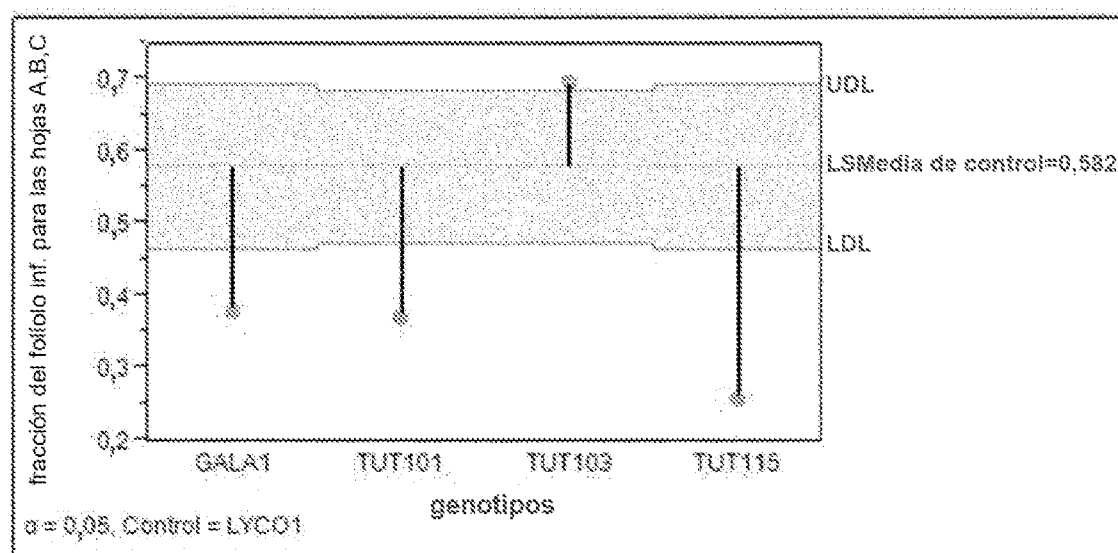


FIG. 6