

Molekularni markeri u oplemenjivanju rajčice

Molecular markers in tomato breeding

Guberac, S., Petrović, S., Guberac, V., Marić, S.

Poljoprivreda/Agriculture

ISSN: 1848-8080 (Online)

ISSN: 1330-7142 (Print)

DOI: <http://dx.doi.org/10.18047/poljo.21.2.9>



Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Poljoprivredni institut Osijek

Faculty of Agriculture in Osijek, Agricultural Institute Osijek

MOLEKULARNI MARKERI U OPLEMENJIVANJU RAJČICE

Guberac, S., Petrović, S., Guberac, V., Marić, S.

Pregledni znanstveni članak
Scientific review

SAŽETAK

Većina postojećih sorti rajčice nastala je klasičnim oplemenjivanjem. Međutim, mnogobrojni problemi koji se javljaju pri procesu oplemenjivanja doveli su do razvoja i primjene novih tehnologija u oplemenjivanju bilja. Jedna od važnijih tehnologija je tehnologija molekularnih markera, koja bi mogla doprinijeti povećanju učinkovitosti procesa oplemenjivanja. Zbog svoje jednostavne genetske strukture, rajčica je jedna od najviše istraživanih vrsta porodice Solanaceae te jedna od prvih kultura za koju su razvijeni molekularni markeri i mape. Rajčica danas ima jednu od najdetaljnijih genetskih mapa te je gotovo nemoguće odrediti točan broj gena/QTL-a koji su mapirani na kromosomima rajčice. Svakako najraširenija primjena molekularnih markera u oplemenjivanju rajčice odnosi se na genetsku kontrolu patogena.

Ključne riječi: rajčica, molekularni marker, oplemenjivanje

UVOD

Rajčica (*Lycopersicon esculentum* Mill.) je jednogodišnja povrtna kultura iz porodice *Solanaceae* – pomoćnice. Smatra se da rajčica potječe s područja Srednje ili Južne Amerike, odakle je u 15. stoljeću prenesena na područje Europe (Sims, 1980.). Danas se rajčica uzgaja u gotovo svim dijelovima svijeta i na svim geografskim širinama. Ukupna svjetska proizvodnja rajčice 2013. godine iznosila je preko 163 milijuna tona. Najveći proizvođač rajčice u svijetu je Kina, s godišnjom proizvodnjom od preko 50 milijuna tona (<http://faostat3.fao.org/>). Na svjetskoj razini, kultivirana rajčica je, nakon krumpira, drugo povrće po konzumaciji te danas postoji više različitih sorti rajčice nego kod ijednoga drugoga povrća (Foolad i Panthee, 2012.).

Početak domestikacije rajčice vezan je za područje Amerike. Iako postoje dvije hipoteze o mjestu domestikacije rajčice, jedna iz Perua i druga iz Meksika, ne postoje isključivi dokazi u korist jedne od njih (Peralta i Spooner, 2007.). Sami začeci oplemenjivanja rajčice datiraju od 30-ih godina prošloga stoljeća. Iako su se ciljevi oplemenjivanja rajčice mijenjali kroz godine, možemo reći da se danas generalno nastoji smanjiti troškove proizvodnje, a pri tome ostvariti što veći prinos i kvalitetu. Od 1970-ih glavni naglasak u oplemenjivanju rajčice stavljen je na stvaranje F1 hibrida, koji se danas koriste u većini svjetskih zemalja (Foolad, 2007.). Većina postojećih sorti rajčice nastala je klasičnim oplemenjiva-

njem, koje se temelji na fenotipskoj selekciji i testiranju potomstva. Iako su klasični oplemenjivački programi znatno doprinijeli poboljšanju i razvoju široke lepeze sorti rajčice, dugotrajnost i zahtjevnost klasičnog oplemenjivačkoga procesa i dalje je ograničavajući čimbenik.

Naime, razvoj novih sorti rajčice metodama klasičnog oplemenjivanja može trajati 10-15 godina. Osim toga, javljaju se i problemi, kao što su: potreba za velikim populacijama, značajnim površinama i radnom snagom, interakcije genotipa i okoliša, nemogućnost ocjenjivanja biljaka u ranim fazama rasta i razvoja, otežana selekcija recesivnih svojstava i svojstava niske heritabilnosti itd. (Bai i Lindhout, 2007., Foolad i Panthee, 2012.).

Bai i Lindhout (2007.) navode da je prosječno vrijeme smjene komercijalnih sorti rajčice pet godina te je uvođenje novih tehnologija, koje će omogućiti brži razvoj novih i poboljšanih sorti rajčice, neophodno, kako bi se zadržala konkurentnost na tržištu. Jedan od mogućih načina za brže i učinkovitije provođenje oplemenjivačkoga procesa je korištenje molekularnih markera povezanih s genom/QTL-om od interesa. Široka upotreba molekularnih markera u oplemenjivanju bilja, među ostalim i rajčice, započinje 80-ih godina prošloga stoljeća. Zbog svoje jednostavne genetske strukture, tj. diploidnoga genoma veličine 950 Mb s 35 000 gena lociranih na

Sunčica Guberac, mag. ing. agr., asistent (suncica.guberac@pfos.hr), doc. dr. sc. Sonja Petrović, prof. dr. sc. Vlado Guberac, prof. dr. sc. Sonja Marić - Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d, 31000 Osijek, Hrvatska

$2n=2x=24$ kromosoma, rajčica je jedna od najviše istraživanih vrsta porodice *Solanaceae* te jedna od prvih kultura za koju su razvijeni molekularni markeri i mape (Tanksley i sur., 1992.).

MARKERI I MAPE

Markeri ili marker svojstva označavaju prisustvo nekoga drugoga, gospodarski važnoga svojstva za kojeg su vezani, a geni, koji ih kontroliraju, nazivaju se gen markeri. Tri su glavne vrste genetskih markera: a) morfološki markeri – predstavljaju fenotipska svojstva, vezani su uglavnom za major gene, ekspresija im je nestalna (utjecaj okoline) te su vidljivi tek kada je biljka potpuno razvijena; b) biokemijski markeri – predstavljaju izoenzime i bjelančevine koji su direktni proizvod pojedinih gena te samo djelomično pokrivaju genom, analiziraju se putem elektroforeze; c) molekularni (DNK) markeri – predstavljaju fragmente DNK, omogućavaju razlikovanje pojedinih genotipova na temelju DNK analize (Collard i sur., 2005.).

Početak primjene markera u oplemenjivanju bilja vezan je za morfološke markere koje su oplemenjivači koristili pri odabiru superiornih fenotipova. Kasnije su u oplemenjivanju i izradi genetskih mapa uglavnom korišteni izoenzimi (Tanksley i Rick, 1980.). Iako izoenzimi imaju određene prednosti, glavni nedostatak im je niska polimorfnost i ograničen broj. Prva klasična *linkage* mapa rajčice objavljena je 1968. godine i uključivala je morfološke i fiziološke markere (Butler, 1968.). Razvojem DNK markera, krajem 80-ih i početkom 90-ih godina prošloga stoljeća, uspjelo se riješiti probleme vezane za primjenu morfoloških markera i izoenzima. DNK markeri tako daju direktnu informaciju o genotipu, nisu pod utjecajem okolišnih činitelja, nisu ograničeni brojem te pokrivaju cijeli genom. Kako je rastao broj dostupnih molekularnih markera, razvijan je i sve veći broj genetskih mapa. Prva molekularna *linkage* mapa rajčice objavljena je 1986. i uključivala je 18 izoenzima i 94 DNK markera (Bernatzky i Tanksley, 1986.). Danas se u oplemenjivanju i izradi genetskih mapa najviše koriste markeri na bazi PCR reakcije, budući da su jednostavniji za korištenje, jeftiniji te zahtijevaju manje vremena i rada u usporedbi s ranije korištenim RFLP markerima (Foolad i Panthee, 2012.). Danas je u oplemenjivanju rajčice dostupan veliki broj različitih molekularnih markera: RFLP, RAPD, AFLP, SSR, SNP, EST, ISSR, CAPS, SCAR, SSAP* i dr. (Landegren i sur., 1998., Zhang i Stommel, 2001., Kochieva i sur., 2002., Bonnema i sur., 2002., He i sur., 2003., Tikunov i sur., 2003., Tam i sur., 2005., Sabatini i sur., 2006.). Szczechura i sur. (2011.) navode da je kod rajčice identificirano i mapirano preko 9300 molekularnih markera.

* RFLP-Restriction Fragment Length Polymorphism, RAPD-Random Amplified Polymorphic DNA, AFLP-Amplified Fragment Length Polymorphism, SSR-Simple Sequence Repeats, SNP-Single Nucleotide Polymorphism, EST-Expressed Sequence Tag, ISSR-Inter Simple Sequence Repeat, CAPS-Cleaved Amplified Polymorphic Sequences, SCAR-Sequence Characterized Amplified Region, SSAP-Sequence-Specific Amplification Polymorphisms

Glavna je prepreka korištenju molekularnih markera u oplemenjivanju rajčice niska razina polimorfizma unutar populacija (Stevens i Robbins, 2007.). Procjenjuje se da genom kultivirane rajčice sadrži manje od 5% genetske varijabilnosti svojih divljih srodnika (Miller i Tanksley, 1990.). He i sur. (2003.) smatraju da uzrok niskoga polimorfizma leži u samooplodnji modernih sorti rajčice i njihovoj uskoj genetskoj osnovi te je potrebno pronaći markere višega stupnja polimorfizma, koji će moći detektirati čak i minimalne genetske razlike. Tako se, primjerice, sve više radi na razvijanju visokorazlučivih markera, kao što su SNP markeri, koji mogu razlikovati čak i genetski vrlo bliske jedinice (Yang i sur., 2004., Labate i Baldo, 2005.). Većina genetskih mapa rajčice stoga je, s ciljem postizanja što veće razine polimorfnosti markera, napravljena na temelju križanja kultiviranih vrsta rajčice i njihovih divljih srodnika i to uglavnom križanjem s vrstama *Lycopersicon pennelli* i *L. pimpinellifolium* (Foolad, 2007.).

Upotreba molekularnih markera i mapa može znatno olakšati utvrđivanje broja, kromosomske lokacije i učinaka gena i QTL-a koji kontroliraju svojstvo od interesa (Tanksley, 1993.). Molekularni markeri danas se kod rajčice koriste za karakterizaciju germplazme (Rao i sur., 2006.), identifikaciju i utvrđivanje čistoće sorte (Bredemeijer i sur., 1998.), procjenjivanje genetske udaljenosti među vrstama (Alvarez i sur. 2001.), genetsko mapiranje (Saliba-Colombani i sur., 2000.) te kloniranje gena (Liu i sur., 2002.).

MARKERIMA POTPOMOGNUTA SELEKCIJA (MAS)

Markerima potpomognuta selekcija (MAS) predstavlja najrašireniju upotrebu molekularnih markera u oplemenjivanju bilja. Prava primjena MAS-a u oplemenjivanju rajčice započela je prije više od 30 godina korištenjem izoenzima Aps-1 kao markera za indirektnu selekciju na otpornost na nematode (Medina-Filho i Stevens, 1980.). Osnovni je princip MAS-a iskorištavanje *linkage disequilibrium* (LD) između markera i gena/QTL-a od interesa, pri čemu LD označava tendenciju određene kombinacije alela da se nasljeđuju zajedno. S dovoljno snažnim LD-om selekcija se može provoditi direktno putem markera, kako bi se indirektno povećala frekvencija određenih alela. Na taj bi način markerima potpomognuta selekcija omogućila jednostavniju, bržu, jeftiniju i efikasniju selekciju (Hospital, 2009.). Preliminarni korak markerima potpomognute selekcije je mapiranje. Za mapiranje genoma rajčice uglavnom su korištene rane F2/F3 generacije ili BC1/BC2 generacije. Pored njih koriste se i rekombinantne inbred linije – RIL (Paran i sur., 1997.), kasne BC generacije – AB (Bernacchi i sur., 1998.), backcross inbred linije – BIL (Doganlar i sur., 2002.) i introgresijske linije – IL (Gur i sur., 2004.). Mapiranje major gena, koji utječu na različita morfološka i fiziološka svojstva rajčice, kao i otpornosti na različite bolesti, započelo je vrlo rano, 30-ih godina prošloga stoljeća (MacArthur, 1934.), dok

upotreba markera u identifikaciji QTL-a i kompleksnih svojstava rajčice počinje 1980-ih, kada su uglavnom korišteni izoenzimi te F2 ili BC1 mapirajuće populacije. Mapiranje gena i QTL-a postalo je od tada vrlo raširena praksa te je danas gotovo nemoguće odrediti točan broj gena/QTL-a koji su otkriveni ili mapirani na kromosomima rajčice (Foolad, 2007.).

Najčešće korištene MAS metode u oplemenjivanju bilja su markerima potpomognuto povratno križanje i markerima potpomognuti *gene pyramiding*. Metoda povratnoga križanja koristi se u svrhu poboljšanja jednog ili više svojstava koja nedostaju nekoj dobroj sorti. Najčešće se koristi za unošenje otpornosti na bolesti i štetnike. Prema Hollandu (2004.), postoje tri glavne razine markerima potpomognutoga povratnoga križanja: 1.) upotreba markera za identifikaciju ciljanoga gena ili QTL-a (*foreground selection*), 2.) upotreba markera za selekciju BC potomstva koje nosi ciljani gen i usko vezane bočne markere, u cilju smanjenja LD-a (rekombinantna selekcija) i 3.) upotreba markera za selekciju BC potomstva s najvećim udjelom genoma rekurentnoga roditelja (*background selection*). Primjenom MAS-a moguće je, u konačnici, smanjiti broj BC generacija sa šest na dvije do četiri. Markerima potpomognuto povratno križanje predstavlja najrašireniji tip implementacije MAS-a u oplemenjivačkim programima. *Gene pyramiding* podrazumijeva proces slaganja ili kombiniranja nekoliko gena unutar jedne sorte, a najviše se koristi pri kombiniranju većega broja gena za otpornost na bolesti. Na taj način može se stvoriti dugotrajnija i stabilnija kvantitativna otpornost, koja je uvjetovana brojem gena, a ne samim mehanizmom otpornosti (Lindhout, 2002.).

BIOTSKI STRES

Jedan od glavnih problema koji se javlja prilikom uzgoja rajčice su oštećenja prouzročena različitim patogenima. Rajčica je domaćin preko 200 različitih vrsta bolesti i štetnika koji mogu prouzročiti znatnu ekonomsku štetu. Budući da je kemijska zaštita potencijalno opasna te se nije pokazala u potpunosti učinkovitom, sve se više radi na razvoju otpornih sorti (Bai i Lindhout, 2007.). Identifikacija markera povezanih s otpornošću na bolesti kod rajčice započela je 70-ih godina prošloga stoljeća, kada je utvrđena veza između otpornosti na nematodu korijenovih guka (*Meloidogyne spp.*) i izoenzima Asp-1 (Rick i Fobes, 1974.). Od tada se molekularni markeri koriste za mapiranje major gena za vertikalnu otpornost i QTL-a za horizontalnu otpornost na bolesti. Na molekularnoj mapi rajčice tako su mapirani geni/QTL-i koji pokazuju otpornost na sve glavne razrede biljnih patogena (Kaloshian i sur., 1998., Foolad i sur., 2002., Bai i sur., 2003., Scott i sur. 2004., Brouwer i St. Clair, 2004., Finkers i sur., 2007.). U genetskoj kontroli patogena rajčice uglavnom su korištene monogenetske, dominantne otpornosti unesene iz divljih srodnika. Oplemenjivanje rajčice rezultiralo je sortama s otpornošću na najmanje 15 patogena, iako s varirajućom stabilnošću i razinom ekspresije (Barone, 2003.).

ABIOTSKI STRES

Nepovoljni okolišni uvjeti, također, mogu predstavljati ograničavajuće faktore pri uzgoju rajčice. Budući da su svojstva tolerantnosti/otpornosti na abiotiski stres kompleksne prirode, identifikacija i mapiranje QTL-a koji uvjetuju ta svojstva mogla bi biti od velike koristi u oplemenjivanju rajčice. Tolerantnost na salinitet jedno je od najviše istraživanih svojstava, gdje su identificirani QTL-i odgovorni za tolerantnost u različitim fazama razvoja biljke, a ponajviše oni vezani za fazu klijanja (Breto i sur., 1994., Foolad i sur., 1998a., Foolad i sur., 2001., Foolad, 2005.). Rajčica je kultura osjetljiva na niske temperature te kod temperatura nižih od 10°C prestaje sa svojim rastom i razvojem. Također, rajčica je vrlo osjetljiva na sušne uvjete u svim svojim fazama rasta i razvoja. Korištenjem molekularnih markera pronađeni su QTL-i koji uvjetuju otpornost na stresne okolišne uvjete, kao što su niske temperature i suša (Vallejos i Tanksley, 1983., Martin i sur., 1989., Foolad i sur., 1998b., Foolad i sur., 2003.).

SVOJSTVA KVALITETE

Iznimno važno područje u oplemenjivanju rajčice svakako je i kvaliteta samoga ploda. Kvaliteta rajčice za prodaju u svježem stanju određena je njenim izgledom, tvrdoćom i okusom, dok je kod rajčica za preradu važna ukupna količina topivih tvari, boja, pH i čvrstoća ploda. Bitne komponente predstavljaju i sadržaj šećera, organskih kiselina i antioksidansa (Szczechura i sur., 2011.). Istraživanja o genetskoj kontroli svojstava kvalitete uglavnom su vezana za procese dozrijevanja i određivanja sadržaja topivih tvari u plodu (Rick i Chetelat, 1995.). Zbog važnosti rajčice u ljudskoj prehrani provedena su brojna istraživanja o načinu nasljeđivanja velikoga broja svojstava kvalitete te su pronađene lokacije različitih gena/QTL-a i njihovi markeri (Causse i sur., 2001., van der Knapp i Tanksley, 2001., Fulton i sur., 2002., Frary i sur., 2004., Causse i sur., 2004., Rousseaux i sur., 2005.).

ZAKLJUČAK

Unatoč tome što je korištenjem molekularnih markera identificirano i mapirano mnoštvo gena/QTL-a za mnoga važna agronomska svojstva rajčice, vrlo je malo primjera njihove uspješne implementacije. Glavno ograničenje šire praktične primjene MAS-a predstavlja nepolimorfni markeri, nedostatak studija o njihovoj validaciji, upitna pouzdanost i točnost mapiranih QTL-a, kao i visoka cijena. Primjena MAS-a tako je uglavnom svedena na jednostavna svojstva koja su kontrolirana manjim brojem gena s velikim efektom. Također, primjena MAS-a većim je dijelom vezana za privatni sektor. Kod kompleksnih svojstava MAS je i dalje riskantan, neizvjestan i ovisan o fenotipskim testiranjima te, vjerojatno, nikada u potpunosti neće zamijeniti fenotipsku selekciju.

LITERATURA

1. Alvarez, A.E., van de Wiel, C.C.M., Smulders, M.J.M., Vosman, B. (2001): Use of microsatellites to evaluate genetic diversity and species relationships in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1283-1292.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s001220100662>
2. Bai, Y., Huang, C.C., van der Hulst, R., Meijer-Dekens, F., Bonnema, G., Lindhout, P. (2003): QTLs for tomato powdery mildew resistance (*Oidium lycopersici*) in *Lycopersicon parviflorum* G1.1601 co-localize with two qualitative powdery mildew resistance genes. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 16: 169-176.
doi: <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.2.169>
3. Bai, Y., Lindhout, P. (2007): Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future? *Annals of Botany*, 100: 1085-1094.
doi: <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcm150>
4. Barone, A. (2003): Molecular marker-assisted selection for resistance to pathogens in tomato. Marker-assisted selection: A fast track to increase genetic gain in plant and animal breeding? Session I: MAS in plant. <http://www.fao.org/biotech/docs/Barone.pdf>; datum pristupa 02.02.2015.
5. Bernacchi, D., Beck-Bunn, T., Eshed, Y. et al. (1998): Advanced backcross QTL analysis in tomato. I. Identification of QTLs for traits of agronomic importance from *Lycopersicon hirsutum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(3): 381-397.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s001220050908>
6. Bernatzky, R., Tanksley, S.D. (1986): Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNK sequences. *Genetics*, 4: 887-898.
7. Bonnema, G., van den Berg, P., Lindhout, P. (2002): AFLPs mark different genomic regions compared with RFLPs: a case study in tomato. *Genome*, 45: 217-221.
doi: <http://dx.doi.org/10.1139/g01-145>
8. Bredemeijer, G.M.M., Arens, P., Wouters, D. (1998): The use of semi-automated fluorescent microsatellite analysis for tomato cultivars identification. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 584-590.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s001220050934>
9. Breto, M.P., Asins, M.J., Carbonell, E.A. (1994): Salt tolerance in *Lycopersicon* species. III. Detection of quantitative trait loci by means of molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 88: 395-401.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00223650>
10. Brouwer, D.J., St.Clair, D.A. (2004): Fine mapping of three quantitative trait loci for late blight resistance in tomato using near isogenic lines (NILs) and subNILs. *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 628-638.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-003-1469-8>
11. Butler, L. (1968): Linkage summary. Report of the Tomato Genetics Cooperative, 18: 4-6.
12. Causse, M., Saliba-Colombani, V., Lesschaevael, I., Buret, M. (2001): Genetic analysis on organoleptic quality in fresh market tomato. 2. Mapping QTLs for sensory attributes. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 273-283.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s001220051644>
13. Causse, M.V., Duffe, P., Gomez, M.C., Buret, M., Damiadux, R., Zamir, D. et al. (2004): A genetic map of candidate genes and QTLs involved in tomato fruit size and composition. *Journal of Experimental Botany*, 55(403): 1671-1685.
doi: <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erh207>
14. Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B., Pang, E.C.K. (2005): An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, 142: 169-196.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-005-1681-5>
15. Doganlar, S., Frary, A., Ku, H.M., Tanksley, S.D. (2002): Mapping quantitative trait loci in inbred backcross lines of *Lycopersicon pimpinellifolium* (LA1589). *Genome*, 45(6): 1189-1202.
16. Finkers, R., van der Berg, P., van Berloo, R., ten Have, A., van Heusden, A.W., van Kan, J.A.L., Lindhout, P. (2007): Three QTLs for *Botrytis cinerea* resistance in tomato. *Theoretical and Applied Genetics*, 114: 585-593.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-006-0458-0>
17. Foolad, M.R. (2005): Breeding for abiotic stress tolerances in tomato, in *Abiotic Stresses: Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches*, M. Ashraf and P. J. C. Harris, Eds., pp. 613-684, The Haworth Press, New York, NY, USA.
18. Foolad, M.R. (2007): Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 10: 1-52.
doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2007/6435>
19. Foolad, M.R., Chen, F.Q., Lin, G.Y. (1998a): RFLP mapping of QTLs conferring salt tolerance during germination in an interspecific cross of tomato. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(9): 1133-1144.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s001220051002>
20. Foolad, M.R., Chen, F.Q., Lin, G.Y. (1998b): RFLP mapping of QTLs conferring cold tolerance during seed germination in an interspecific cross of tomato. *Molecular Breeding*, 4(6): 519-529.
doi: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1009648112491>
21. Foolad, M.R., Panthee, D.R. (2012): Marker-Assisted Selection in Tomato Breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31(2): 93-123.
doi: <http://dx.doi.org/10.1080/07352689.2011.616057>
22. Foolad, R., Zhang, P., Khan, A.A., Nino-Liu, D., Lin, Y. (2002): Identification of QTLs for early blight (*Alternaria solani*) resistance in tomato using backcross populations of a *Lycopersicon esculentum* x *L. hirsutum* cross. *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 945-958.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-002-0870-z>
23. Foolad, M.R., Zhang, L.P., Lin, G.Y. (2001): Identification and validation of QTLs for salt tolerance during vegetative growth in tomato by selective genotyping. *Genome*, 44(3): 444-454.
doi: <http://dx.doi.org/10.1139/g01-030>
24. Foolad, M.R., Zhang, L.P., Subbiah, P. (2003): Genetics of drought tolerance during seed germination in tomato: inheritance and QTL mapping. *Genome*, 46(4): 536-545.
doi: <http://dx.doi.org/10.1139/g03-035>
25. Frary, A., Fulton, T.M., Zamir, D., Tanksley, S.D. (2004): Advanced backcross QTL analysis of a *Lycopersicon*

- esculentum* x *L. pennellii* cross and identification of possible orthologues in the *Solanaceae*. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(3): 485-496.
26. Fulton, T.M., Bucheli, P., Voirol, E., Lopez, J., Petiard, V., Tanksley, S.D. (2002): Quantitative trait loci (QTL) affecting sugars, organic acids and other biochemical properties possibly contributing to flavour identified in four advanced backcross populations of tomato. *Euphytica*, 127: 163-177.
doi: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020209930031>
 27. Gur, A., Semel, Y., Cahaner, A., Zamir, D. (2004): Real time QTL of complex phenotypes in tomato interspecific introgression lines. *Trends in Plant Science*, 9(3): 107-109.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2004.01.003>
 28. He, C., Poysa, V., Yu, K. (2003): Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(2): 363-373.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-002-1076-0>
 29. Holland, J.B. (2004): Implementation of molecular markers for quantitative traits in breeding programs – challenges and opportunities. In Proc. 4th Int. Crop. Sci. Congress., Brisbane, Australia, 26 September - 1 October.
 30. Hospital, F. (2009): Challenges for effective marker-assisted selection in plants. *Genetica*, 136: 303-310.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-008-9307-1>
 31. Kaloshian, I., Yaghoobi, J., Liharska, T., Hontelez, J., Hanson, D., Hogan, P. (1998): Genetic and physical localization of the root-knot nematode resistance locus Mi in tomato. *Molecular and General Genetics*, 257(3): 376-385.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s004380050660>
 32. Kochieva, E.Z., Ryzhova, N.N., Khrapalova, I.A., Pukhalkyi, V.A. (2002): Using RAPD for estimating genetic polymorphism in and phylogenetic relationships among species in the genus *Lycopersicon* (Toum.) Mill. *Russian Journal of Genetics*, 38: 1104-1108.
 33. Labate, J.A., Baldo, A.M. (2005): Tomato SNP discovery by EST mining and resequencing. *Molecular Breeding*, 16(4): 343-349.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-005-1911-5>
 34. Landegren, U., Nilsson, M., Kwok, P.Y. (1998): Reading bits of genetic information: methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Research*, 8(8): 769-776.
doi: <http://dx.doi.org/10.1101/gr.8.8.769>
 35. Lindhout, P. (2002): The perspective of polygenic resistance in breeding for durable disease resistance. *Euphytica*, 124: 217-226.
doi: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1015686601404>
 36. Liu, J., van Eck, J., Cong, B., Tanksley, S.D. (2002): A new class of regulatory genes underlying the cause of pear-shaped tomato fruit. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99: 13302-13306.
doi: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.162485999>
 37. MacArthur, J.W. (1934): Linkage groups in the tomato. *Journal of Genetics*, 29: 123-133.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02981789>
 38. Martin, B., Nienhuis, J., King, G., Schaefer, A. (1989): Restriction fragment length polymorphisms associated with water use efficiency in tomato. *Science*, 243: 1725-1728.
doi: <http://dx.doi.org/10.1126/science.243.4899.1725>
 39. Medina-Filho, H., Stevens, M. (1980): Tomato breeding for nematode resistance: survey of resistant varieties for horticultural characteristics and genotype of acid phosphatase. *Acta Horticulturae*, 100: 383-391.
 40. Miller, J.C., Tanksley, S.D. (1990): RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 80: 437-448.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00226743>
 41. Paran, I., Goldman, I., Zamir, D. (1997): QTL analysis of morphological traits in tomato recombinant inbred line population. *Genome*, 40(2): 242-248.
doi: <http://dx.doi.org/10.1139/g97-034>
 42. Peralta, I.E., Spooner, D.M. (2007): History, origin and early cultivation of tomato (*Solanaceae*). In: Razdan MK, Mattoo AK, editors. *Genetic improvement of solanaceous crops*. Vol. 2. Enfield, NH: Science Publishers; 2007. p. 1-27.
 43. Rao, R., Corrado, G., Bianchi, M., Di Mauro, A. (2006): (GATA)4 DNK fingerprinting identifies morphologically characterized San Marino tomato plants. *Plant Breeding*, 125: 173-176.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01183.x>
 44. Rick, C.M., Chetelat, R.T. (1995): Utilization of related wild species for tomato improvement. *Acta Horticulturae*, 412: 21-38.
doi: <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.412.1>
 45. Rick, C.M., Fobes, J.F. (1974): Association on an allozyme with nematode resistance. *Report of the Tomato Genetics Cooperative*, 24: 25.
 46. Rousseaux, M.C., Jones, C.M., Adams, D., Chetelat, R., Bennett, A., Powell, A. (2005): QTL analysis of fruit antioxidants in tomato using *Lycopersicon pennellii* introgression lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 111: 1396-1408.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-005-0071-7>
 47. Sabatini, E., Rotino, G.L., Voltattorni, S., Acciari, N. (2006): A novel CAPS marker derived from the *Ovate* gene in tomato (*L. esculentum* Mill.) is useful to distinguish two Italian ecotypes and to recover pear shape in marker assisted selection. *European Journal of Horticultural Science*, 71: 193-198.
 48. Saliba-Colombani, V., Causse, M., Gervais, L., Philouze, J. (2000): Efficiency of RFLP, RAPD and AFLP markers for the construction of an intraspecific map of the tomato genome. *Genome*, 43: 29-40.
doi: <http://dx.doi.org/10.1139/gen-43-1-29>
 49. Scott, J.W., Agrama, H.A., Jones, J.P. (2004): RFLP based analysis of recombination among resistance genes to fusarium wilt races 1, 2 and 3 in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129: 394-400.
 50. Sims, W.L. (1980): History of tomato production for industry around the world. *Acta Horticulturae*, 100: 25-26.
doi: <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.1980.100.1>

51. Stevens, M.A., Robbins, M.D. (2007): Molecular markers in selection of tomato germplasm. Genetic Improvement of Solanaceous Crops, Vol. 2: Tomato. Razdan, M. K., Mattoo, A. K., Eds., str. 239-260. Science Publishers, Enfield, NH, USA.
52. Szczechura, W., Staniaszek, M., Habdas, H. (2011.): Tomato Molecular Markers. Vegetable crops Research Bulletin, 74: 5-23.
doi: <http://dx.doi.org/10.2478/v10032-011-0001-y>
53. Tam, S.M., Mhiri, C., Vogelaar, A., Kerkveld, M., Pearce, S.R., Grandbastien, M.A. (2005): Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. Theoretical and Applied Genetics, 110: 819-831.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-004-1837-z>
54. Tanksley, S.D. (1993): Mapping polygenes. Annual Review of Genetics, 27: 205-233.
doi: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ge.27.120193.001225>
55. Tanksley, S.D., Rick, C.M. (1980): Isozyme gene linkage map of the tomato: Applications in genetics and breeding. Theoretical and Applied Genetics, 58: 161-170.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00279708>
56. Tanksley, S.D., Ganai, M.W., Prince, J.P., de Vicente, M.C., Bonierbale, M.W., Broun, P., Fulton, T.M., Giovannoni, J.J., Grandillo, S., Martin, G.B., Messeguer, R., Miller, J.C., Miller, L., Paterson, A.H., Pineda, O., Roder, M.S., Wing, R.A., Wu, W., Young, N.D. (1992): High Density Molecular Linkage Maps of the Tomato and Potato Genomes. Genetics, 132: 1141-1160.
57. Tikunov, Y.M., Khrustaleva, L.I., Karlov, G.I. (2003): Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. Euphytica, 131: 71-80.
doi: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1023090318492>
58. Vallejos, C.E., Tanksley, S.D. (1983): Segregation of isozyme markers and cold tolerance in an interspecific backcross of tomato. Theoretical and Applied Genetics, 66: 241-247.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00251153>
59. Van der Knapp, E., Tanksley, S. (2001): Identification and characterization of a novel locus controlling early fruit development in tomato. Theoretical and Applied Genetics, 103: 353-358.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s001220100623>
60. Yang, W., Bai, X., Kabelka, E. (2004): Discovery of single nucleotide polymorphisms in *Lycopersicon esculentum* by computer aided analysis of expressed sequences tags. Molecular Breeding, 14(1): 21-34.
doi: <http://dx.doi.org/10.1023/B:MOLB.0000037992.03731.a5>
61. Zhang, Y., Stommel, J.R. (2001.): Development of SCAR and CAPS markers linked to the *Beta* gene in tomato. Crop Science, 41: 1602-1608.
doi: <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2001.4151602x>
62. <http://faostat3.fao.org/> (15.12.2014.)

MOLEKULARNI MARKERI U OPLEMENJIVANJU RAJČICE

SUMMARY

Although most of the existing tomato cultivars have been developed by conventional breeding, numerous problems that occur during the breeding process have led to the development and application of new technologies in plant breeding. Certainly one of the most important is molecular markers technology, which might have an important role in increasing the efficiency of breeding process. Because of its simple genetic structure, tomato is one of the most studied species of the family Solanaceae, and one of the first culture for which molecular markers and maps have been developed. Tomato has one of the most detailed genetic maps and it is almost impossible to determine the exact number of genes/QTLs that have been mapped on tomato chromosomes. Certainly the most widespread application of molecular markers in tomato breeding is the genetic control of pathogens.

Key-words: tomato, molecular marker, breeding

(Primljeno 5. ožujka 2015.; prihvaćeno 27. studenoga 2015. - Received on 5 March 2015; accepted on 27 November 2015)