

“Marcadores moleculares como apoyo al fitomejoramiento”

“Molecular markers as support to plant breeding”

Iris Betzaida Pérez Almeida¹ y Luis Rafael Angulo Gratero²

¹Universidad Ecotec, Ecuador.

²Universidad Central de Venezuela, Venezuela

RESUMEN

Los marcadores moleculares son secuencias de ADN que se pueden utilizar para detectar variaciones genéticas asociadas con rasgos económicamente importantes en la agricultura, de modo que pueden ser empleados por los fitomejoradores como herramientas de selección, aumentando la eficiencia del proceso tradicional, ya que se analiza el genotipo de los individuos morfológicamente similares excluyendo la influencia del ambiente. Los marcadores moleculares se han identificado como una herramienta útil en la selección de genotipos superiores; se han usado extensamente en el mapeo de genes, tanto para rasgos cualitativos como cuantitativos y también son útiles, para identificar los rasgos económicamente importantes en la población reproductora y su posterior manipulación en poco tiempo. El fitomejoramiento a través de la selección asistida por marcadores (MAS) tiene un enorme potencial para mejorar la eficiencia de los métodos convencionales. La biotecnología agrícola permite establecer una aproximación entre el fenotipo y el genotipo de los individuos, permitiendo el estudio de la variabilidad existente en los materiales genéticos y el avance sostenido en el mejoramiento genético de plantas. Se exploran las ventajas de las diferentes formas disponibles de marcadores moleculares y sus aplicaciones.

Palabras clave: selección asistida por marcadores, marcadores genéticos, mapas genéticos, PCR, variabilidad.

ABSTRACT

Molecular markers are DNA sequences that can be used to detect genetic variations associated with economically important traits in agriculture, so that they can be used by plant breeders as selection tools, increasing the efficiency of the traditional process, since the genotype of morphologically similar individuals excluding the influence of the environment. Molecular markers have been identified as a useful tool in the selection of superior genotypes; they have been used extensively in gene mapping, both for qualitative and quantitative traits and are also useful, to identify economically important traits in the breeding population and their subsequent manipulation in a short time. Plant breeding through marker assisted selection (MAS) has enormous potential to improve the efficiency of conventional methods. Agricultural biotechnology allows establishing an approximation between the phenotype and the genotype of individuals, allowing the study of the existing variability in genetic materials and sustained progress in the genetic improvement of plants. The advantages of the different available forms of molecular markers and their applications are explored.

Keywords: marker-assisted selection, genetic markers, genetic maps, PCR, variability.

I. INTRODUCCIÓN

La alimentación de la humanidad depende de la capacidad de producir alimentos de origen vegetal, cubiertas desde hace miles de años por la agricultura; la cual produce alimentos y piensos, además de fibras textiles, insumos farmacológicos, cosmetológicos e industriales, y biocombustibles.

Con una población creciente que sobrepasa los 7.8 billones de personas (UNFPA, 2021), se necesitan variedades vegetales más productivas y adaptadas a entornos más marginales, el cambio climático, fenómenos meteorológicos extremos asociados, limitada productividad agrícola, restricciones en la cantidad de tierra cultivable y agua que se dedica a la agricultura; así como escenarios de aumento de la presión demográfica, y efectos de la pandemia por la COVID-19.

La agricultura sostenible intenta cumplir con la demanda siempre creciente de los productos, lo cual requiere una gestión integrada, con un enfoque diversificado y prácticas sustentables y sostenibles de los recursos genéticos haciendo énfasis en la preservación del ambiente, mantenimiento de la calidad, disminución del uso de insumos agrícolas y el logro de la viabilidad económica (Anderson et al. 2016).

El mejoramiento genético de plantas se define como el conjunto de procedimientos que buscan maximizar los beneficios asociados a los cultivos y su consumo; es una práctica que acompaña a la humanidad desde hace miles de años (Acquaah, 2012). Pretende desarrollar variedades de alto rendimiento y buen comportamiento agronómico resistentes a estreses bióticos y abióticos, con productos finales de buena calidad (Acquaah, 2012; Cobb et al. 2019). Implica la selección por parte de los seres humanos de determinadas variantes de unas pocas especies de plantas elegidas de acuerdo con su idoneidad para la explotación, ya sea como recursos comestibles o no comestibles.

Los dos requisitos clave previos tanto para el mejoramiento como para la evolución son la variación y la selección (Acquaah, 2012; Snowdon et al. 2021). Si no existen, es posible que el ser humano pueda promover variación genética a través de procesos como mutagénesis inducida, hibridación, o por introgresión controlada de rasgos de diversas poblaciones de la misma o diferentes especies, y la transgénesis (Acquaah, 2012).

MARCADORES APLICADOS AL MEJORAMIENTO VEGETAL

Generalmente, el proceso de selección de genotipos con características agronómicamente deseables se realiza en base a la información fenotípica de los individuos, la cual está muy influenciada por interacciones ambientales en la expresión del fenotipo, especialmente para caracteres con baja heredabilidad, controlados por un gran número de genes (Acquaah, 2012).

Marcadores morfológicos

En general como marcadores morfológicos se toman caracteres o características fenotípicas fácilmente

visualizables, que se puedan detectar expeditamente, como por ejemplo enanismo, deficiencia de clorofila, color de pétalos o morfología de hojas, rugosidad de granos (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

La evaluación se concentra en los rasgos morfológicos, agronómicos y fisiológicos, es decir, en aquellas características que definen la forma, apariencia, componentes del rendimiento y funciones fisiológicas de un conjunto de individuos (De Vicente et al. 2004). Estas características tienen una cantidad limitada de descriptores morfológicos (aproximadamente 50); son de polimorfismo bajo, con poco nivel informativo, de expresión dominante o recesivo y su evaluación requiere el estudio de todas las fases fisiológicas de la planta, hasta el estado adulto (Acquaah, 2012). Su expresión puede estar influenciada por la acción de dominancia genética, por pleiotropía y epistasis, además de factores ambientales (De Vicente et al. 2004; Acquaah, 2012).

Como ventajas se puede mencionar que están fácilmente disponibles; su evaluación requiere usar equipo sencillo generalmente (o ninguno); y constituyen la medida más directa del fenotipo. Como desventajas tenemos que requieren un conocimiento práctico del cultivo o de la especie vegetal; están sujetos a influencias ambientales, interacción (GxA); y su número es limitado (De Vicente et al. 2004).

Marcadores proteicos (o bioquímicos)

Se basan en las propiedades de migración de las proteínas, las cuales permiten separarlas mediante electroforesis, y se pueden detectar mediante ensayos histoquímicos específicos. Tienen algunas ventajas como requerir de un equipo de laboratorio relativamente sencillo y que representan un valioso complemento de la evaluación morfológica. Como desventajas podemos citar que están sujetos a la influencia ambiental y a la etapa fisiológica del tejido; además su número es limitado (De Vicente et al. 2004; Acquaah, 2012).

Marcadores de ADN (o moleculares)

Los marcadores moleculares son secuencias o segmentos de ADN hereditarias e identificables que se encuentran en ubicaciones específicas dentro del genoma y están ligados físicamente a loci que determinan características de interés. Se pueden usar para detectar polimorfismos de ADN y tienen un valor considerable para los recursos fitogenéticos en la definición de estrategias de conservación, estudios de análisis de brechas y desarrollo de estrategias de muestreo para bancos de genes con el fin de priorizar poblaciones para la conservación (Griffiths et al. 2000; De Vicente et al. 2004; Acquaah, 2012). Según Da Costa et al. (2017) incluye cualquier diferencia fenotípica controlada genéticamente y utilizada en el análisis genético. Por tanto, un marcador genético es un locus marcador que tiene que ser polimórfico y emplearse con una doble finalidad, para marcar o señalar el locus que controla la diferencia fenotípica y/o para marcar otro locus próximo (ligado) que controla el carácter de interés.

Los atributos ideales de un marcador genético para estos autores son: (a) polimórfico (multialélico); (b) codominante; (c) no epistático, es decir, se puede leer el genotipo a partir

del fenotipo, independientemente del genotipo de otros loci; (d) neutro, las sustituciones alélicas no tienen otros efectos fenotípicos y (e) insensible al ambiente, es decir, el genotipo se infiere a partir del fenotipo, independientemente del medio (De Vicente et al. 2004; Acquaah, 2012).

La evaluación de la variación genotípica se hace al nivel de la molécula de ADN, que es la responsable de la transmisión de la información genética, no es afectada por el ambiente, es decir, sin interacción (GxA); tiene un número y cantidad ilimitada de información polimórfica, una amplia cobertura del genoma; un mayor nivel informativo que los descriptores morfoagronómicos, su expresión es dominante, recesiva o codominante; pueden ser evaluados desde la semilla, granos y en plántulas de pocos días después de su germinación y sus resultados son rápidos y objetivos (De Vicente et al. 2004).

Los marcadores genéticos se han empleado en diferentes fases de la mejora de las plantas: el pre-mejoramiento (conservación y uso de los recursos genéticos, conocimiento y uso del sistema reproductivo, caracterización y pureza de cultivares para emplearlos como progenitores); el mejoramiento (selección de progenitores y monitoreo en los

híbridos, selección asistida para caracteres cualitativos y cuantitativos, introgresión de genes desde especies silvestres) y el post-mejoramiento (caracterización y pureza de cultivares en los lotes de semilla, desarrollo e identificación de Organismos Genéticamente Modificados (OGM), entre otros).

Estas herramientas moleculares tienen un impacto cada vez mayor en el estudio y la gestión de los recursos genéticos. Se han usado, también con éxito, en otras líneas de investigación en plantas, tales como la filogenia, el diagnóstico de patógenos, y la agroindustria (Borém et al. 2014; Lateef et al. 2015; Da Costa et al. 2017). Dentro de las ventajas se puede mencionar que su número es potencialmente ilimitado; no están sujetos a influencias ambientales (sin interacción GxA); constituyen una medida objetiva de la variación. La desventaja principal es que necesitan de un equipo técnicamente más complejo y los costos de adquisición, mantenimiento y calibración son elevados, sin embargo, se han hecho más asequibles con el tiempo (Figuras 1 y 2; Tanksley, 1983; Rallo et al. 2002).



Figura 1.

Comparación entre la evaluación de la variación fenotípica y genotípica, mediante marcadores morfológicos y moleculares (Tanksley 1983; Rallo et al. 2002).

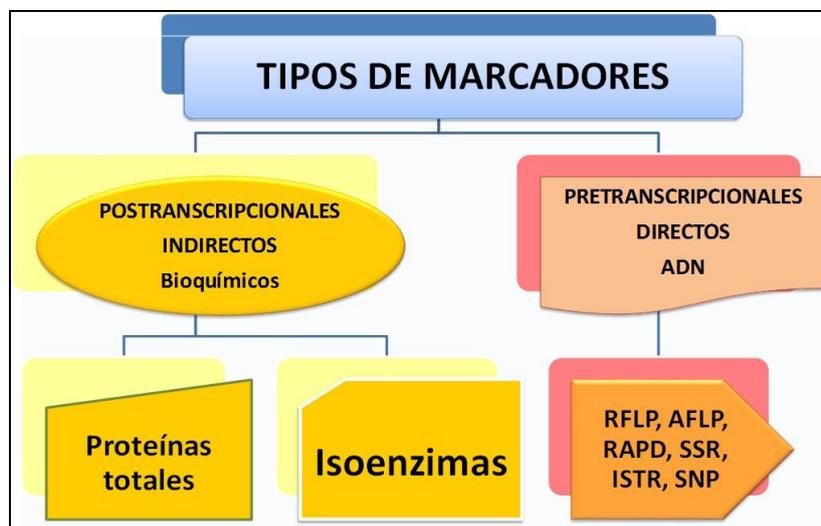


Figura 2.

Clasificación de los marcadores de acuerdo al flujo de la información genética del Dogma Central de la Biología.

Los marcadores se pueden clasificar en dos categorías: los que incluyen las técnicas basadas en hibridación y los basados en la PCR (Karlik y Tombuloğlu, 2016; De Vicente et al. 2004). En la primera categoría encontramos el Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP), fundamentados en la hibridación y las enzimas de restricción; y en la segunda categoría existe una amplia variedad, los más utilizados son Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos Amplificados (AFLP), ADN amplificado al azar (RAPD), Secuencias Simples Repetidas (SSR), Repeticiones

de Secuencias Interspecíficas (ISSR), Amplificación de Regiones en Secuencias Caracterizadas (SCAR), Secuencias Polimórficas Amplificadas Escindidas (CAPS), Polimorfismo de Amplificación de la Región Objetivo (TRAP) y el Polimorfismo de un Simple Nucleótido (SNP) (Karlik y Tombuloğlu, 2016). Entre sus variaciones se mencionan NBS (Sitio de Unión de Nucleótidos) y DArT (Tecnología de Matrices de Diversidad) (Hailu y Asfere, 2020) (Figura 3; Diola et al. 2014).

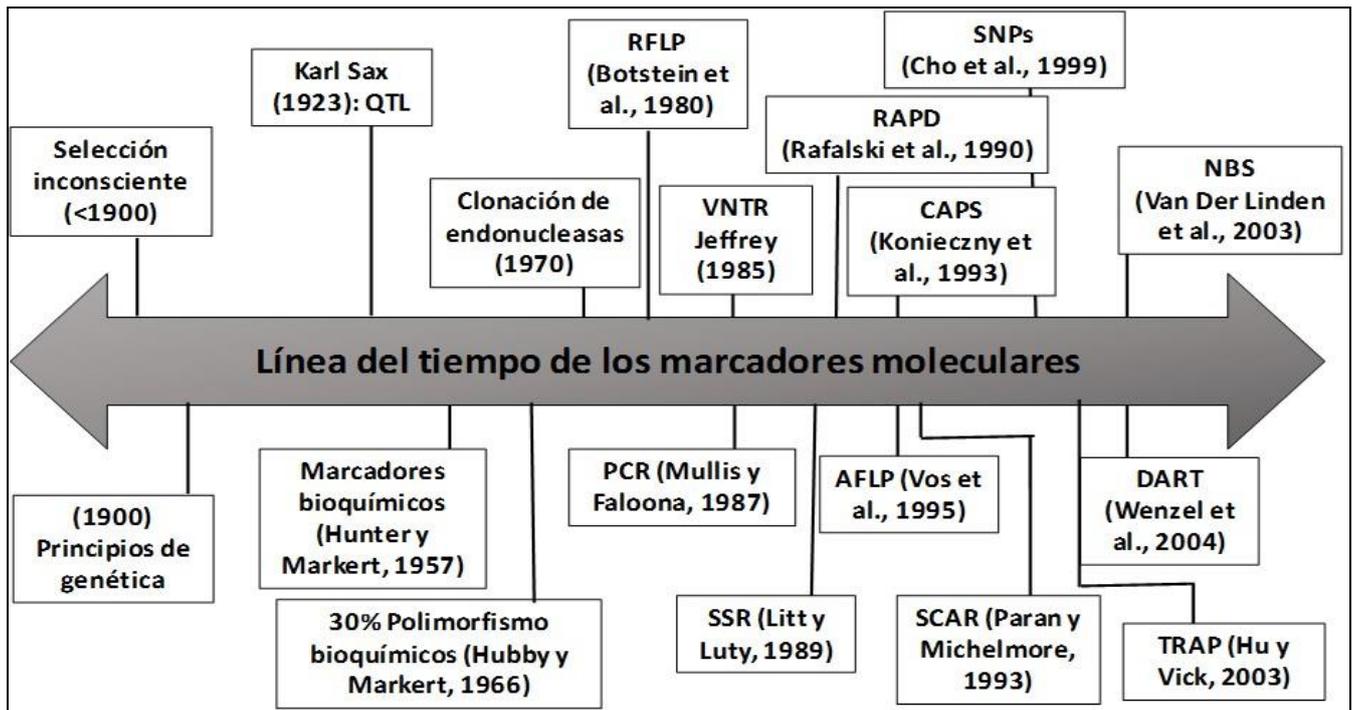


Figura 3.

Principales metodologías de la genética, los marcadores moleculares e investigadores que contribuyeron a la generación de nuevas tecnologías con aplicación en el fitomejoramiento (Diola et al. 2014).

En la mayoría de los estudios realizados en el área agrícola, durante los últimos quince años, se han utilizado numerosos sistemas de marcadores para evaluar y caracterizar la diversidad genética de las bases del ADN en diferentes cultivos. La estrategia de los marcadores moleculares ha permitido mejorar la eficacia de los programas de mejoramiento genético en la obtención de cultivares nuevos, en términos de tiempo y costo (Ahmad et al. 2021). Generalmente, todos los marcadores moleculares revelan información útil sobre el polimorfismo del ADN y se han utilizado para analizar la estructura genética de las plantas cultivadas, su base genética (amplia o estrecha), nivel de heterocigosis, el equilibrio genético, las frecuencias alélicas y los índices de fijación. La biotecnología es una herramienta importante en la construcción de mapas de marcadores moleculares de alta densidad (Ahmad et al. 2021, Lateef et al. 2015).

Uso de los marcadores moleculares en la caracterización de Recursos Fitogenéticos

La caracterización es un requisito previo para identificar y priorizar los recursos genéticos que se conservarán y es

fundamental para optimizar la asignación de fondos adecuada a los programas de conservación cuando los recursos son limitados (Boettcher et al. 2010). Vincula la conservación y la utilización, ya que permite la identificación de rasgos únicos y valiosos de los recursos genéticos, tanto in situ como ex situ, para su incorporación a los programas de mejoramiento, con el reto de producir cultivos de corta duración con características específicas. Adicionalmente permite asegurar la propiedad, realizar bioprospección y evitar la biopiratería (Ruane y Sonnino, 2011).

Se ha utilizado ampliamente en fitomejoramiento para caracterizar bancos de germoplasma, análisis de la diversidad genética, piramidación de genes, introgresión de rasgos múltiples y estudios de la pureza genética, en cereales, leguminosas, oleaginosas, cultivos de fibra, frutales, entre otros (Lateef et al. 2015). Los estudios de mapeo genético y de asociación entre marcadores moleculares y características fenotípicas o loci de caracteres cuantitativos (QTL), han permitido asociar varios marcadores moleculares, con algunos caracteres: componentes de rendimiento, tolerancia al estrés hídrico y resistencia a plagas o enfermedades, en diferentes especies de cultivos, muy importante para acelerar

los programas de mejoramiento de cultivos y su uso potencial en el fitomejoramiento (Lateef et al. 2015; Kumawat et al. 2020).

El mejoramiento asistido por marcadores (MAS) puede aumentar la eficiencia para introducir genes de resistencia, ya que nos permite seguir el gen o los genes bajo selección a través de las generaciones, sin tener que esperar la expresión fenotípica de estos, además de conocer la base molecular de la(s) resistencia(s) (Barone y Fruciante 2007). MAS ha sido usado amplia y exitosamente identificando marcadores que están ligados a genes, gen o alelo específicos, o combinaciones de múltiples genes o alelos (Foolad y Sharma 2005; Foolad 2007; Ibitoye y Akin-Idowu, 2010).

Fortalecimiento a los Programas de Mejoramiento Vegetal

La biotecnología apoya la obtención de nuevos materiales, ya que proporciona métodos innovadores que les permiten seguir siendo competitivos a nivel mundial; establece una aproximación entre el fenotipo y el genotipo de los individuos, permitiendo el estudio de la variabilidad existente en los materiales genéticos y el avance sostenido en el mejoramiento genético de plantas (Acquaah, 2012). Como herramienta en los programas de fitomejoramiento genético, su importancia radica en resaltar la utilización combinada de mejoramiento clásico y mejoramiento asistido, mediante

marcadores moleculares, para lograr la disminución del tiempo requerido para la obtención de cultivares (Diola et al. 2014; Garrido-Cárdenas et al. 2018).

El fitomejoramiento requiere persistencia, porque generalmente se necesitan entre 8 a 12 años para crear un nuevo cultivar, para los procesos involucrados: cruzamientos y la elección del método de mejoramiento, como la línea pura, obtención de híbridos, selección masal, retrocruza (RC), entre otros (Diola et al. 2014; Garrido-Cardenas et al. 2018). Las herramientas biotecnológicas permiten reducir el período de selección de líneas y realizar la selección mediante el genotipo. De aquí la importancia en la integración del mejoramiento clásico con las herramientas biotecnológicas, por ejemplo, el método biotecnológico de la transformación genética, para obtener cultivos genéticamente modificados, las líneas obtenidas pueden ser utilizadas como progenitores en los programas convencionales (Garrido-Cárdenas et al. 2018).

Se realiza la evaluación de las líneas en el programa de mejoramiento, mediante la selección de homocigotos y establecer la estabilidad genética de los cultivares mejorados. Al utilizar la selección asistida el proceso puede lograrse más fácilmente con marcadores moleculares codominantes y disminuir el tiempo requerido, para desarrollar nuevos cultivares (Figura 4) (Sharma et al. 2002; Borém et al. 2014).

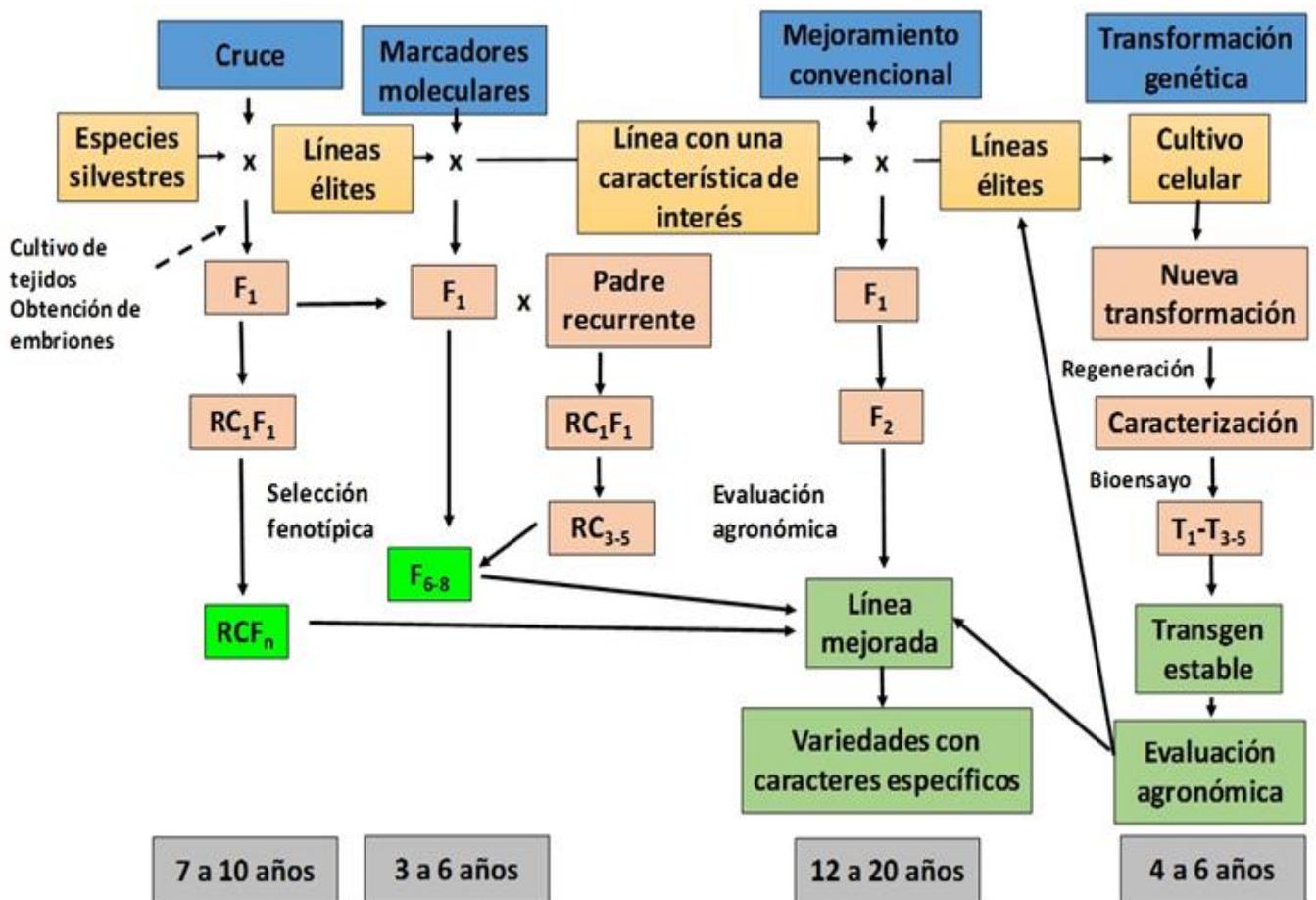


Figura 4.

Esquema de mejoramiento genético combinado: Mejoramiento genético clásico y biotecnología (Adaptado de Sharma et al. 2002; Borém et al. 2014).

La baja aceptación pública de los organismos genéticamente modificados (OGM) ha ocasionado que los centros de investigación internacional buscaran otro enfoque para el mejoramiento de cultivos y el aumento de su valor nutricional, desarrollando la estrategia de biofortificación (Pérez-Almeida, 2019). Las herramientas genómicas avanzadas pueden desempeñar un papel importante en la aceleración del mejoramiento genético de estas vitaminas y minerales a través de la biofortificación en los principales cereales y alimentos básicos (Ashokkumar et al. 2020). Es necesaria la coordinación de la investigación entre los expertos en los campos de agricultura y nutrición para fortalecer el nivel objetivo de carotenoides y folatos, su retención después de la cocción, almacenamiento, procesamiento y consumo de concentraciones prospectivas en la población objetivo (Ashokkumar et al. 2020).

Además de la creciente población mundial a la cual hay que alimentar, vestir y mantener, el segundo gran desafío es el cambio climático, que afecta a la frecuencia de eventos climáticos extremos, altera patrones de crecimiento de cultivos, así como la distribución de plagas, malezas y enfermedades que amenazan los cultivos y el ganado. Se espera que los impactos generales del cambio climático en la agricultura y la seguridad alimentaria tiendan a ser cada vez más negativos, especialmente en áreas ya vulnerables a desastres relacionados con el clima y la inseguridad alimentaria (Pérez-Almeida, 2019). A todo este panorama se ha sumado la incidencia de la COVID-19 en la población y el día a día.

II. CONCLUSIONES

En el pasado, el mejoramiento tradicional ha sido utilizado para seleccionar variedades cultivadas con características mejoradas; la biotecnología moderna representa un conjunto de herramientas moleculares para disminuir el tiempo para desarrollar y liberar nuevas variedades, logrando avances eficientes y rápidos, así como para mejorar la sostenibilidad agrícola y la seguridad alimentaria. Los marcadores de ADN, especialmente aquellos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han generado un gran avance en la investigación genética de cultivos de importancia para la alimentación.

III. REFERENCIAS

- [1] Ahmad, R; Anjum, M; Naz, S; Mukhtar, R. 2021. Applications of molecular markers in fruit crops for breeding programs: a review. *Phyton*, 90 (1): 17-34. <https://doi.org/10.32604/phyton.2020.011680>.
- [2] Anderson, JA; Gipmans, M; Hurst, S; Layton, R; Nehra, N; Pickett, J; Shah, DM; Souza, TL; Tripathi, L. 2016. Emerging agricultural biotechnologies for sustainable agriculture and food security. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(2) 383–393. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04543>
- [3] Acquah, G. 2012. Principles of Plant Genetics and Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)
- [4] Ashokkumar, K; Govindaraj, M; Karthikeyan, A; Shobhana, VG; Warkentin, TD. 2020. Genomics-integrated breeding for carotenoids and folates in staple cereal grains to reduce malnutrition. *Frontiers in genetics*, 11, 414. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00414>
- [5] Barone, A; Fruciante, L. 2007. Molecular marker-assisted selection for resistance to pathogens in tomato. In: Guimaraes, E; Ruane, J; Scherf, B; Sonnino, A; Dargie, J (eds) *Marker Assisted Selection: current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*. FAO. Rome, Italy. pp 151-164.
- [6] Boettcher, PJ; Tixier-Boichard, M; Toro, MA; Simianer, H; Eding, H; Gandini, G; Joost, S; Garcia, D; Colli, L; Ajmone-Marsan, P. 2010. Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. *Animal genetics*, 41 Suppl 1, 64–77. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02050.x>
- [7] Borém, A; Diola, V; Fritsche-Neto, R. 2014. Plant Breeding and Biotechnological Advances. In: *Biotechnology and Plant Breeding Applications and Approaches for Developing Improved Cultivars*. Borém, A. and Fritsche-Neto, F. (eds). 1- 17. Academic Press: London <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-418672-9.00001-5>.
- [8] Cobb, JN; Juma, RU; Biswas, PS; Arbelaez, JD; Rutkoski, J.; Atlin, G.; Hagen, T.; Quinn, M.; Ng, EHN. 2019. Enhancing the rate of genetic gain in public-sector plant breeding programs: lessons from the breeder's equation. *Theor Appl Genet* 132, 627–645. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03317-0>
- [9] Da Costa, AF; Teodoro, PE; Bhering, LL; Tardin, FD; Daher, RF; Campos, WF; Viana, AP; Pereira, MG. 2017. Molecular analysis of genetic diversity among vine accessions using DNA markers. *Genetic and Molecular Research* 16 (2): gmr160295586. DOI <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16029586>
- [10] De Vicente, M. C., Lopez, C., & Fulton, T. 2004. Genetic diversity analysis with molecular marker data: learning module. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/user_upload/online_library/publications/pdfs/Molecular_Markers_Volume_1_en.pdf
- [11] Diola, V; Borém, A; Arruda, N. 2014. Chapter 10: Tools for the Future Breeder. In: Borém, A., Diola, V. and Fritsche-Neto, R. Academic Press: London. 257 p. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-418672-9.00001-5>.

- [12] Ferreira, ME; Grattapaglia, D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2 ed. Brasília: Embrapa-Cenargen. 220 p.
- [13] Foolad, MR. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International journal of plant genomics*, 2007, 64358. <https://doi.org/10.1155/2007/64358>
- [14] Foolad, M; Sharma, A. 2005. Molecular markers as selection tools in tomato breeding. *Acta Hort* 695: 225-240. DOI: 10.17660/ActaHortic.2005.695.25
- [15] Garrido-Cardenas, JA.; Mesa-Valle, C. & Manzano-Agugliaro, F. 2018. Trends in plant research using molecular markers. *Planta* 247, 543–557 <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2829-y>
- [16] Griffiths, AJ; Gelbart, WM; Miller, JH; Lewontin, RC. 2000. *Genética Moderna*. McGraw-Hill – Interamericana de España, S. A. U. Madrid, España. 676 p.
- [17] Hailu, G; Asfere, Y. 2020. The role of molecular markers in crop improvement and plant breeding programs: a review. *Agricultural Journal* 15 (6): 171-175. DOI: 10.36478/aj.2020.171.175
- [18] Ibitoye, DO; Akin-Idowu, PE. 2010. Marker-assisted-selection (MAS): A fast track to increase genetic gain in horticultural crop breeding. *African Journal of Biotechnology* 9 (52), 8889-8895. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- [19] Karlik, E. and H. Tombuloğlu. 2016. Molecular Markers and Their Applications. In: K.R. Hakeem et al. (eds.), *Plant Omics: Trends and Applications*, Springer International Publishing: Switzerland DOI 10.1007/978-3-319-31703-8_6
- [20] Kumawat, G; Kumawat, C; Chandra, K; Pandey, S; Chand, S; Mishra, U; Lenka, D; Sharma, R. 2020. Insights into Marker Assisted Selection and Its Applications in Plant Breeding. <http://doi:10.5772/intechopen.95004>.
- [21] Lateef, DD. 2015. DNA marker technologies in plants and applications for crop improvements. *J Biosci Med* 3:7–18. <https://doi.org/10.4236/jbm.2015.35002>
- [22] Pérez Almeida, I. B. (2019). Aportes de la biotecnología al mejoramiento del arroz en Ecuador. *REVISTA CIENTÍFICA ECOCIENCIA*, 6(5), 1–22. <https://doi.org/10.21855/ecociencia.65.225>
- [23] Rallo, P; Belaj, A; De La Rosa, R; Trujillo, I. 2002. Marcadores moleculares (en línea). Córdoba, España. Disponible en: http://www.extremadura21.com/caudal/hemeroteca/ma-yo-junio_2000/almazara/almazara1.htm.
- [24] Ruane, J; Sonnino, A. 2011. Agricultural biotechnologies in developing countries and their possible contribution to food security. *Journal of biotechnology*, 156(4), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.06.013>
- [25] Sharma, HC; Crouch, JH; Sharma, KK; Seetharama, N; Hash, CT. 2002. Applications of biotechnology for crop improvement: prospects and constraints. *Plant Science* 163, 381–395.
- [26] Snowdon, R.J., Wittkop, B., Chen, TW. et al. Rod J. Snowdon, Benjamin Wittkop, Tsu-Wei Chen & Andreas Stahl Crop adaptation to climate change as a consequence of long-term breeding. *Theor Appl Genet* 134, 1613–1623 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03729-3>
- [27] Tanksley, SD. 1983. Molecular Markers in Plant Breeding (Review). *Plant Molecular Biology Reporter* 1, 3-8.
- [28] UNFPA (Fondo de Población de las Naciones Unidas). 2021. Consultado 01/10/2021 <https://www.unfpa.org/es/data/world-population-dashboard>.